

Université de Montréal

**Régulation du réseau hippocampique par la plasticité synaptique mTORC1-dépendante
des interneurons somatostatinergriques**

Par Alexander Jordan

Département de neurosciences
Faculté de médecine

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures et postdoctorales en vue de l'obtention du
grade de Maîtrise ès sciences (M.Sc.)
en sciences neurologiques

Décembre 2018

© Alexander Jordan, 2018

Résumé

L'hippocampe est la principale région cérébrale en vue de l'acquisition de nouvelles connaissances jouant un rôle central dans la mémoire et la navigation spatiale. La plasticité synaptique à long terme est reconnue comme étant un substrat cellulaire majeur de l'apprentissage et la mémoire. Elle est principalement attribuée aux cellules principales, mais son rôle au sein du circuit d'inhibition reste un défi majeur à élucider. La présente étude comporte l'utilisation de délétions conditionnelles qui altèrent l'expression de certains gènes spécifiquement chez les interneurons exprimant la somatostatine (SOM-INS) en altérant la fonction de *Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1* (mTORC1), un important mécanisme de contrôle traductionnel dans la plasticité synaptique. Dans le cadre de l'étude, il a été démontré qu'il est possible d'induire une potentialisation à long terme (PLT) tardive via les récepteurs glutamatergiques métabotropiques de type 1 (mGluR1) et dépendant de mTORC1 à l'aide de stimulations chimiques répétées des mGluR1. De plus, la régulation à la baisse et à la hausse de l'activité de mTORC1 dans les SOM-INS affecte de manière bi directionnelle la plasticité synaptique de l'excitation récurrente des interneurons inhibiteurs. D'autres part, cette PLT tardive dans les SOM-INS régule la PLT de la voie des collatérales de Schaffer. Ces résultats sous-tendent un rôle fonctionnel de la plasticité synaptique aux afférences excitatrices des SOM-INS dans la régulation de l'intégration de l'information au sein de l'hippocampe.

Mots-clés : Hippocampe, inhibition, plasticité synaptique, mTORC1, mGluR1, interneurons somatostatinerigiques, méta-plasticité, apprentissage et mémoire.

Summary

Hippocampus is the main cerebral region within the brain that has a role in the learning process and by doing so has a crucial function in memory and spatial navigation. Long-term synaptic plasticity of principal cells is strongly established as a prime cellular substrate for hippocampal learning and memory. However, the contribution of inhibitory interneuron synaptic plasticity in hippocampal memory consolidation remain a major challenge. In this study, cell-type specific conditional knockout strategies were used to alter specifically in somatostatin interneurons (SOM-INs) *Mechanistic Target of Rapamycin Complex 1* (mTORC1) activity, an important translational control mechanism in long-term synaptic plasticity. In the study, it is shown that it is possible to induce group I metabotropic glutamate receptor (mGluR1) and mTORC1 mediated late long-term potentiation (l-LTP) at excitatory input synapses onto SOM-INs by applying repetitive chemical induction of mGluR1. Furthermore, up- and down-regulation of SOM-INs mTORC1 activity bi-directionally regulated synaptic plasticity of feedback excitation of inhibitory interneurons. In addition, mTORC1-mediated late-LTP in SOM-INs regulated Schaffer collateral pathway LTP in pyramidal neurons. These findings uncover a functional role of synaptic plasticity at excitatory inputs onto SOM-INs in the regulation of hippocampal integration of information.

Key words: Hippocampus, synaptic plasticity, inhibition, somatostatinergic interneurons, metaplasticity, mTORC1, mGluR1, learning and memory.

Table des matières

Résumé	ii
Summary	iii
Table des matières	iv
Liste des figures	vii
Liste des abréviations	ix
Remerciements	xii
Chapitre 1	1
1.1 Introduction générale	1
1.1.1 Hippocampe, apprentissage et mémoire chez l'humain	1
1.1.1.1 Patient H.M	1
1.1.1.2 L'hippocampe dans la consolidation de la mémoire	2
1.1.2 La mémoire hippocampe-dépendante chez les rongeurs	2
1.1.2.1 La mémoire spatiale	3
1.1.2.1.1 Le labyrinthe de Barnes	3
1.1.2.2 Apprentissage contextuel conditionné par la peur	3
1.2 Anatomie de la formation hippocampique chez la souris	4
1.2.1 Organisation	4
1.2.2 Cytoarchitecture	5
1.2.3 Connectivité intra- et extra-hippocampique du CA1	6
1.2.4 Circuit tri-synaptique de l'hippocampe	7
1.2.4.1 La voie perforante	7
1.2.4.2 Les fibres moussues	8
1.2.4.3 Les collatérales de Schaffer	8
1.3 Neurotransmission synaptique de l'hippocampe	8
1.3.1 Neurones excitateurs	8
1.3.1.1 Transmission glutamatergique	9
1.3.1.2 Cellules pyramidales – région CA1	9
1.3.2 Neurones inhibiteurs	10
1.3.2.1 Transmission GABAergique	10
1.3.2.1.1 Interneurones de l'hippocampe	11
1.3.2.1.1.1 Classification – diversité de la région CA1	11
1.4 La plasticité synaptique dans l'hippocampe	12
1.4.1 Les PLT du circuit tri synaptique excitateur (voie perforante-fibres moussues-CS) possèdent des mécanismes différents	12
1.4.1.1 La PLT associative et NMDAR dépendante : les collatérales de Schaffer	13
1.5 Décours temporel de la PLT des collatérales de Schaffer	14
1.5.1 La potentialisation à court terme	14

1.5.2	La phase précoce de la potentialisation à long terme	14
1.5.3	La phase tardive de la potentialisation à long terme	16
1.6	La plasticité synaptique des interneurones	17
1.6.1	La PLT hébbienne des SOM et NMDAR indépendante	17
1.6.2.	La PLT persistante chimiquement induite des SOM	21
1.7	Voie de signalisation de mTORC1 et mTORC2	21
1.7.1	Fonction mTORC1 : 1. développement 2. Plasticité synaptique à long terme	24
1.7.2	Voie de signalisation canonique (Régulation de mTORC1)	24
Chapitre 2		26
But du mémoire de maîtrise		26
2.1.	Contexte de recherche	26
2.1.1.	Contexte générale	26
2.1.2.	Contexte spécifique	26
2.2.	Objectif de recherche	27
2.2.2.	Objectifs spécifiques	27
Chapitre 3		29
3.1.	Matériel et méthode	29
3.1.1.	Souris transgéniques	29
3.1.2.	Préparation de tranche aigüe d'hippocampe	30
3.1.3.	Protocole d'induction chimique de la PLT tardive	30
3.1.4.	Enregistrement en mode cellule-entière	31
3.1.5.	Imagerie confocale et reconstruction cellulaire	32
3.1.6.	Enregistrements de potentiel de champs et induction de la PLT tardive par tétanisation	33
3.1.7.	Analyse statistique	34
Chapitre 4		36
4.1	Résultats	36
4.1.1.	PLT tardive mGluR1a-dépendante chez les interneurones SOM de souris matures.	36
4.1.2.	Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive : Inhibition de mTORC1 par le KO de <i>Raptor</i> .	38
4.1.3.	Propriétés membranaires des interneurones chez la souris SOM-raptor-KO.	39
4.1.3.1.	Propriétés intrinsèques infraliminaires	40
4.1.3.2.	Propriétés intrinsèques à l'échelle limbique	41
4.1.3.3.	Propriétés intrinsèques supraliminaires	42
4.1.4.	Propriétés morphologiques des interneurones chez la souris SOM-raptor-KO.	44
4.1.5.	Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive : Facilitation de mTORC1 par le KO de <i>Tsc1</i> .	47
4.1.6.	Régulation de la PLT du réseau CA1 par la PLT tardive des afférences excitatrices des interneurones SOM.	49

Chapitre 5	54
5.1. Discussion	54
5.1.1. Rappel des principaux résultats	54
5.1.2. L'apprentissage contextuel basé sur la peur induit une PLT persistante dépendante de mTORC1 aux synapses excitatrices des SOM-INs.	56
5.1.3. La délétion conditionnelle de <i>Raptor</i> spécifiquement dans les SOM-INs altère la mémoire à long terme dépendante de l'hippocampe.	57
5.1.4. La délétion conditionnelle de <i>Tsc1</i> dans les SOM-INs améliore la mémoire à long terme dépendante de l'hippocampe.	58
5.1.5. Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive	59
5.1.6. Rôle de la PLT dépendante de mTORC1 dans la régulation du réseau hippocampique et dans l'apprentissage et la mémoire	61
5.1.7. Perspectives futures	64
5.1.7.1. Séquençage d'ARNm traduit par activation de mTORC1 dans la plasticité des SOM-INs.	64
5.1.7.2. Inhibition sélective du réseau CA1 par la plasticité synaptique à long terme des SOM-INs	64
5.1.7.3. Étude de la PLT persistante aux afférences excitatrices des SOM-INs in vivo	65
5.1.7.4. Conclusion	66
Chapitre 6	67
Bibliographie	67

Liste des figures

Figure 1.1 Anatomie de l'hippocampe	5
Figure 1.2 Organisation laminaire de l'hippocampe	6
Figure 1.3 Circuit tri-synaptique de l'hippocampe	7
Figure 1.4 Diversité des interneurons GABAergiques de la région CA1 hippocampique	11
Figure 1.5 Décours temporel de la PLT en phase précoce et tardive	16
Figure 1.6 Régulation de la PLT de la voie des collatérales de Schaffer par stimulation en bouffée thêta dans l'oriens/alveus	18
Figure 1.7 Les cellules O-LM α renforcent la PLT de la voie des collatérales de Schaffer	20
Figure 1.8 Voies de signalisation de mTORC1 et mTORC2	22
Figure 3.1 Protocole d'induction chimique de la PLT tardive	29
Figure 4.1 La stimulation répétée des mGluR1a induit une potentialisation à long terme tardive aux synapses excitatrices des SOM-INs du CA1	35
Figure 4.2 La stimulation répétée des mGluR1a n'induit pas de potentialisation à long terme tardive aux synapses excitatrices des SOM-INs de souris Som-raptor-KO.	37
Figure 4.3 Propriétés membranaires passives des interneurons SOM chez les souris SOM-raptor-KO.	38
Figure 4.4 Paramètres intrinsèques supraliminaires	40
Figure 4.5 Propriétés de décharge des interneurons SOM lors de train de potentiel d'action	42
Figure 4.6 Propriétés morphologiques des interneurons SOM.	44
Figure 4.7 Facilitation de l'induction de la potentialisation à long terme tardive des SOM-INs chez la souris SOM-Tsc1-KO.	46

Figure 4.8 Caractérisation des réponses électrophysiologiques des collatérales de Schaffer de tranches hippocampiques de souris matures SOM-raptor-KO.	48
Figure 4.9 La PLT tardive mTORC1-dépendante dans les SOM-INs régulent la PLT des Collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1.	51
Figure 5.1 Modèle de régulation de la mémoire hippocampique par la PLT tardive dépendante de mTORC1 dans les interneurons exprimant la somatostatine de l'aire CA1.	61

Liste des abréviations

4E-BP	<i>eukaryotic initiation factor 4E-binding proteins</i>
AAV	virus adéno-associé (<i>adeno-associated-virus</i>)
AMPA	acide α -amino-3-hydroxy-5-méthyl-4-isoxazolepropionique
AMPA	récepteur du glutamate de type AMPA
AP5	acide 2-amino-5-phosphonovalérique
ARNm	acide ribonucléique messager
ATP	adénosine triphosphate
CA1	<i>Cornus ammonis</i> 1
CA2	<i>Cornus ammonis</i> 2
CA3	<i>Cornus ammonis</i> 3
CaM	calmoduline
CaMKII	protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante II
cAMP	adénosine monophosphate cyclique
CCK	cholécystokinine
CNQX	6-cyano-7-nitroquinoxaline-2,3-dione
CRE	<i>cAMP Response Element</i>
CREB	<i>cAMP Response Element-binding protein</i>
CPSE	courant postsynaptique excitateur
DG	gyrus dentelé (<i>dentate gyrus</i>)
EGTA	acide éthylène glycol tétra-acétique
eIF4A	<i>eukaryotic translation initiation factor-4A</i>
eIF4B	<i>eukaryotic translation initiation factor-4B</i>
eIF4E	<i>eukaryotic translation initiation factor-4E</i>
eIF4F	<i>eukaryotic translation initiation factor-4F complex</i>
eIF4G	<i>eukaryotic translation initiation factor-4G</i>
ERK	<i>extracellular regulated kinases</i>
GABA	acide γ -aminobutyrique

GluA	sous-unité des AMPARs
GTP	guanosine triphosphate
LCRa	liquide céphalo-rachidien artificiel (<i>artificial cerebrospinal fluid</i>)
MAPK	<i>mitogen associated protein kinases</i>
MAP2K	MAP kinase kinases
MAP3K	MAP kinase kinase kinases
mGluR	récepteur métabotrope du glutamate
mTOR	<i>mechanistic target of rapamycin</i>
NMDA	acide N-méthyl-D-aspartique
NMDAR	récepteur du glutamate de type NMDA
O-LM	<i>oriens lacunosum-moleculare</i>
PK1	<i>Phosphoinositide-dependent kinase-1</i>
PIP2	phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate
PIP3	phosphatidylinositol-3,4,5-trisphosphate
PKA	protéine kinase A
PKC	protéine kinase C
PLT	potentialisation à long terme
PPSEc	potentiels de champs excitateurs post-synaptiques (<i>field excitatory post-synaptic potentials</i>)
Ras	<i>Rat sarcoma</i>
RCPG	récepteur couplé aux protéines G
S6K	S6 kinase
SBT	stimulation par bouffée thêta (<i>theta burst stimulation</i>)
SGK1	Protéine sérine/thréonine kinase SGK1
SHF	stimulation à haute fréquence (<i>high frequency stimulation</i>)
SOM-INs	interneurones exprimant la somatostatine
SST	somatostatine
TSC1/2	<i>tuberous sclerosis complex 1/2</i>
VIP	peptide vasoactif intestinal

“Cognitive neuroscience is entering an exciting era in which new technologies and ideas are making it possible to study the neural basis of cognition, perception, memory and emotion at the level of networks of interacting neurons, the level at which we believe many of the important operations of the brain take place.”

- Professor John O’Keefe, Nobel prize in physiology or medicine 2014

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier les membres de mon jury de mémoire, les Drs Pierre Drapeau et Bénédicte Amilhon affiliés à l'Université de Montréal, du temps et des efforts qu'ils ont consacrés à la révision du présent mémoire de maîtrise. J'aimerais également remercier les Drs Roberto Araya et Graziella Di Cristo pour leur contribution à mon comité de parrainage lors de mon cheminement au programme de maîtrise en sciences neurologiques.

Je désire aussi exprimer mes plus sincères remerciements à mon directeur de recherche, le Dr Jean-Claude Lacaille de l'Université de Montréal, tant pour la confiance qu'il m'a témoignée en acceptant ma participation dans son équipe de recherche afin de poursuivre mes études au cycles supérieurs que pour l'encadrement de mes travaux de recherche durant mon séjour et des judicieux conseils partagés.

J'aimerais d'autre part, souligner les remerciements dédiés à l'équipe du laboratoire pour l'entraide dont ils ont fait preuve à mes côtés. J'ai pris plaisir à connaître chacun de leur projet et à développer mon intérêt pour la science. Notamment, le Dr Julien Artinian qui a été responsable de ma formation en électrophysiologie et de mon apprentissage à travers les thématiques du laboratoire, également Dr Isabel Laplante pour la génération des souris transgéniques utilisées et pour son expertise en biologie moléculaire et la technicienne Julie Pépin pour l'approvisionnement des agents pharmacologiques à l'usage.

Je voudrais remercier sans oublier chacun des membres du laboratoire que j'ai pu côtoyer pour leur aide inestimable lors des passages plus difficiles sans compter les minutieux conseils pour solutionner les problèmes d'interférences pendant les enregistrements. J'aimerais leur exprimer ma profonde gratitude pour leur enthousiasme, leur amitié et des nombreux moments partagés ensemble.

Finalement, j'aimerais remercier ma famille pour leur appui inconditionnel tout le long de mon parcours académique.

Chapitre 1

1.1 Introduction générale

1.1.1 Hippocampe, apprentissage et mémoire chez l'humain

1.1.1.1 Patient H.M

Les premiers indices soulignant l'importance du lobe temporal médian dans l'apprentissage et la mémoire nous ramènent aux observations réalisées par les Drs William Scoville et Brenda Milner en rapportant en 1957 une étude neuropsychologique sur des patients souffrant de lésions cérébrales. C'est ainsi, que l'on constate le cas particulier de l'un des patients de l'investigation, le patient H.M pour Henry Molaison, qui a subi un traumatisme crânien durant l'adolescence qui lui causa des épisodes épileptiques pendant les années suivantes de vie. Voyant son état se détériorer de plus en plus, il lui fût proposer un protocole chirurgical pas encore expérimenté afin de soulager ses convulsions. C'est alors qu'avec son accord, il subît une excision bilatérale du lobe temporal médian (Scoville and Milner 1957). L'ablation du lobe temporal médian lui causa une amnésie antérograde sévère (aucun rappel des évènements post-chirurgie) en plus d'une amnésie rétrograde modérée (difficulté à se rappeler des évènements ayant eu lieu avant la chirurgie) affectant le rappel des onze dernières années de vie précédant l'opération (Scoville and Milner 1957, Sagar, Cohen et al. 1985). Autre fait intéressant est que l'affection de sa mémoire était spécifique de sa mémoire déclarative et non de sa mémoire procédurale ou à court terme. De ce fait, Scoville et Milner en ont conclu en premier lieu que plusieurs types de mémoires se réfèrent à des régions cérébrales bien distinctes et en deuxième lieu que l'hippocampe, principale structure du lobe temporal médian, est indispensable à la formation de nouveaux souvenirs déclaratifs (Scoville and Milner 1957). Les études ultérieures au niveau de l'hippocampe ont servi à confirmer son rôle dans la mémoire déclarative chez l'humain (Arnetoli, Caffarra et al. 1983, Sagar, Cohen et al. 1985, Zola-Morgan, Squire et al. 1986) et dans la mémoire dépendante de l'hippocampe d'après les études subséquentes chez les animaux, particulièrement chez les singes et les rongeurs (Squire 1992, Murray and Mishkin 1998, Squire, Clark et al. 2001, Cipolotti and Bird 2006).

1.1.1.2 L'hippocampe dans la consolidation de la mémoire

En considérant le cerveau en tant que syncytium, la mémoire se présente comme un phénomène en continuum à travers les différentes phases à court terme et à long terme amenant à une consolidation de la mémoire impliquant toutes les informations sensorielles perçues dans l'environnement et donc impliquant plusieurs structures en même temps (Basar and Duzgun 2016). Cette observation est effectuée sur les patients ayant subi une ablation du lobe temporal médian dans lesquels l'amnésie rétrograde n'est pas complète. Les souvenirs datant d'une longue durée restent intacts tandis que les souvenirs plus récents sont affectés (Squire 1992). Favoriser la consolidation de la mémoire est le principal rôle de l'hippocampe, transformant des signaux sensoriels à court terme en mémoire encodée permanente ou à long terme. Il est important de distinguer la consolidation de la mémoire du stockage de la mémoire. En effet, si la consolidation de la mémoire implique l'hippocampe, le stockage quant à lui se fait optimalement au sein du néocortex (Mizusaki, Stepanyants et al. 2016). L'hippocampe ne stocke pas l'information indéfiniment, il joue plutôt un rôle intermédiaire en tant que mémoire tampon dans lequel il retient l'information jusqu'à ce que l'information soit transféré vers les différentes régions du néocortex pour un entreposage permanent (Tonegawa, Pignatelli et al. 2015). Ainsi, la consolidation est le processus par lequel les souvenirs deviennent permanent ou de longue durée.

1.1.2 La mémoire hippocampe-dépendante chez les rongeurs

Plusieurs tests comportementaux ont été développés afin d'étudier la mémoire dépendant de l'hippocampe tel que l'apprentissage contextuel conditionné par la peur, le conditionnement à l'évitement, le conditionnement du réflexe de clignement de paupière, les labyrinthes d'apprentissage, les tests de navigation spatiale, la reconnaissance de nouveaux objets. Cependant, pour le besoin du mémoire, nous irons à comprendre certains tests spécifiques utilisés au sein du laboratoire Lacaille dans le but de relier des expérimentations complémentaires aux résultats obtenues à travers mon temps d'étude à la maîtrise.

1.1.2.1 La mémoire spatiale

1.1.2.1.1. Le labyrinthe de Barnes

Ce type d'essai expérimental a été développé par la Dre Carol Barnes qui avait un intérêt marqué par la détérioration de la mémoire relié à la sénescence chez le rat. Ce système consiste en un plateau circulaire muni de plusieurs trous aux extrémités à égale distance du centre dans lesquelles se trouvent une seule sortie vers une cage parmi plusieurs fausses sorties pour le rongeur et est utilisé afin d'étudier la mémoire spatiale (Barnes 1979). Ce test est considéré comme une alternative au précédent test du labyrinthe aquatique de Morris, dans le but d'offrir l'avantage de ne pas tenir compte de l'influence potentiel du comportement par la nage des rongeurs. Bien que les études se sont initiées chez le rat, ce test est très bien adaptée dorénavant pour les souris (Pitts 2018). La mesure des différents paramètres s'effectue par observation d'enregistrement vidéo dans lesquels peuvent être évalués : la distance parcourue, la vélocité, le temps passé dans le bon quadrant, le temps d'immobilité et de mouvement, ainsi que la latence de l'expérimentation. Les indices utilisés afin de résoudre la tâche peut varier entre petit et gros rongeur, considérant des indices à l'intérieur du labyrinthe plus qu'autrement qu'à l'extérieur de celui-ci pour les souris. L'analyse de la performance peut être très demandant, suggérant parfois plus de 4 essais afin d'interpréter les résultats obtenus. Cela étant dit, c'est un test très convoité en étude comportemental dans la comparaison des performances dans divers génotypes ou lors de l'exposition à des agents pharmacologiques (Rosenfeld and Ferguson 2014).

1.1.2.2 Apprentissage contextuel conditionné par la peur

Ce test est un des plus populaires dans l'étude de l'apprentissage et la mémoire, il est considéré comme un test robuste et complémentaire des tests de mémoire de référence spatiale (Malikowska-Racia, Podkowa et al. 2018). Il se base sur la capacité des mammifères dont les rongeurs, à associer des signaux environnementaux avec un évènement aversif modéré. Ce type d'apprentissage découle des premiers tests de conditionnement comportemental effectué similaire au conditionnement Pavlovien (Maren 2008). Bien que l'intérêt soit porté sur le rôle de l'hippocampe dans la mémoire, il est maintenant bien établi qu'elle n'est pas la seule région cérébrale à être impliqué dans ce type d'apprentissage. En effet, l'émotion ressentie causé par le

stimulus aversif implique la fonction de l'amygdale en plus de l'hippocampe (Rogan, Staubli et al. 1997, Ressler and Maren 2018). Ainsi, dans ce test, un nouveau contexte présenté à l'animal est accompagné d'un choc électrique modéré au niveau des pattes, et après entraînement successif de l'évènement, une mémoire associative à long terme est formée. Après la formation de cette mémoire, la réexposition au contexte dans lequel l'évènement aversif a eu lieu enclenche une réaction montrant le rappel de l'exposition précédente au contexte.

1.2 Anatomie de la formation hippocampique chez la souris

1.2.1 Organisation

L'hippocampe est localisé dans une structure anatomique dénommée la formation hippocampique, elle-même faisant partie du lobe temporal médian. La formation hippocampique comprend les structures suivantes : l'hippocampe, le complexe subiculaire et le cortex entorhinal. Ses connexions extra-hippocampiques lui confère la réception de vaste quantité d'informations sensorielles multimodales acheminées principalement par le cortex entorhinal. Celui-ci est connecté aux aires corticales de façon réciproque (Gutierrez Aceves, Celis Lopez et al. 2018). L'hippocampe peut être subdivisé en 3 régions distinctes, soit le gyrus dentelé, la corne d'Ammon (à son tour subdivisée en CA1, CA2 et CA3), et d'un autre côté, le complexe subiculaire se subdivise en subiculum, presubiculum et parasubiculum (Amaral and Witter 1989, van Strien, Cappaert et al. 2009). La formation hippocampique chez les rongeurs a la forme d'un C dans son axe longitudinal (Figure 1.1). L'hippocampe quant à lui tient son nom à sa ressemblance avec le cheval de mer ayant la forme d'un S (Figure 1.2). À l'intérieur de celui-ci tel que mentionné se retrouve le gyrus dentelé en forme de V composée de trois couches distinctes. La couche moléculaire qui comporte les fibres de la voie perforantes, la couche granulaire qui comporte les corps cellulaires des cellules granulaires (cellules principales du gyrus dentelé) et la couche profonde ou couche polymorphique qui est composée de plusieurs types de neurones (Andersen, Morris et al. 2006). Les composantes du complexe subiculaire possèdent des caractéristiques neuroanatomiques différentes, et de ce fait, elles sont considérées comme des aires corticales

différentes. La corne d'Ammon faisant partie intégralement de l'hippocampe, sa cytoarchitecture sera décrite dans la section suivante.

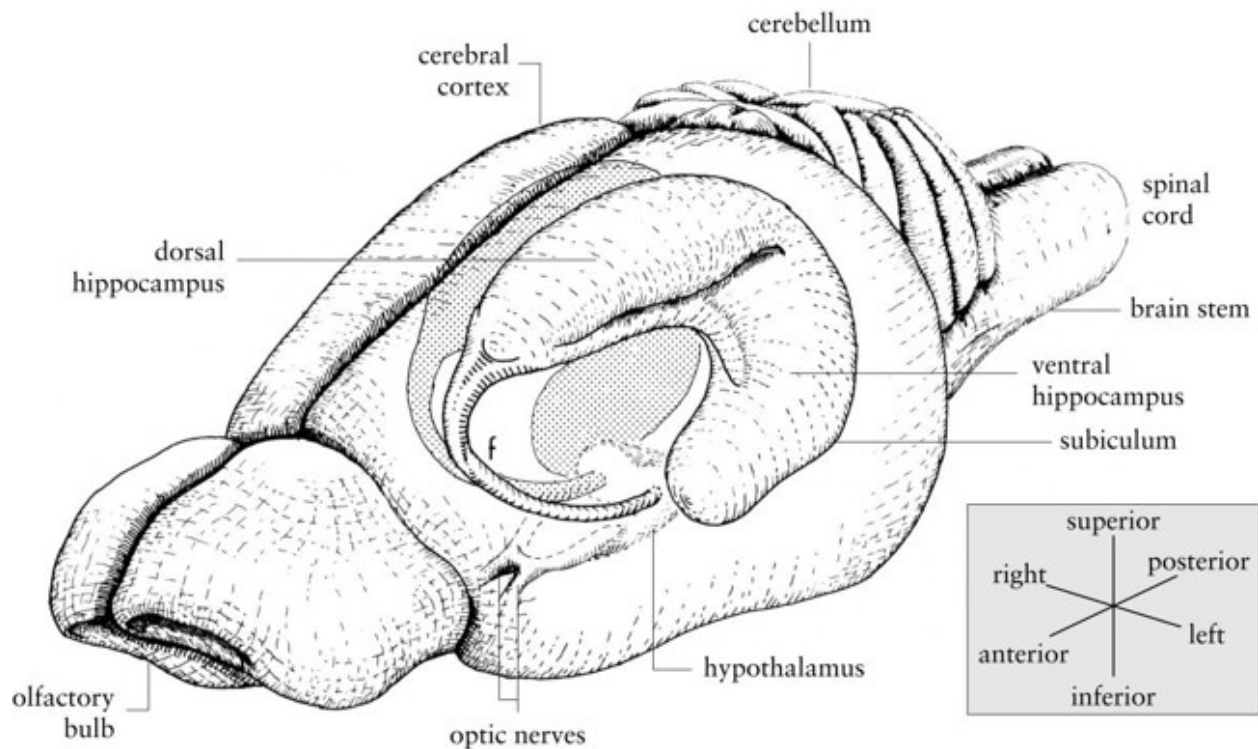


Fig. 1.1 Anatomie de l'hippocampe. Représentation schématique de l'hippocampe dans le cerveau du rongeur. Figure tirée et adaptée de (Cheung and Cardinal 2005).

1.2.2 Cytoarchitecture

Les aires régionales CA1, CA2 et CA3 composant l'hippocampe ont été identifiés au début du 20^e siècle par le neuroanatomiste Lorente de No (Andersen, Morris et al. 2006). Le CA1 se retrouve au-dessus du gyrus dentelé et les deux régions sont séparés par la fissure hippocampique (Figure 1.2). Le CA1 est la région précédant la sortie des signaux hippocampiques vers le subiculum et il reçoit les afférences excitatrices de l'aire CA3. Une région soulevant un intérêt plus récent est le CA2 entre le CA1 et le CA3 et semble être important pour la mémoire sociale (Hitti and Siegelbaum 2014).

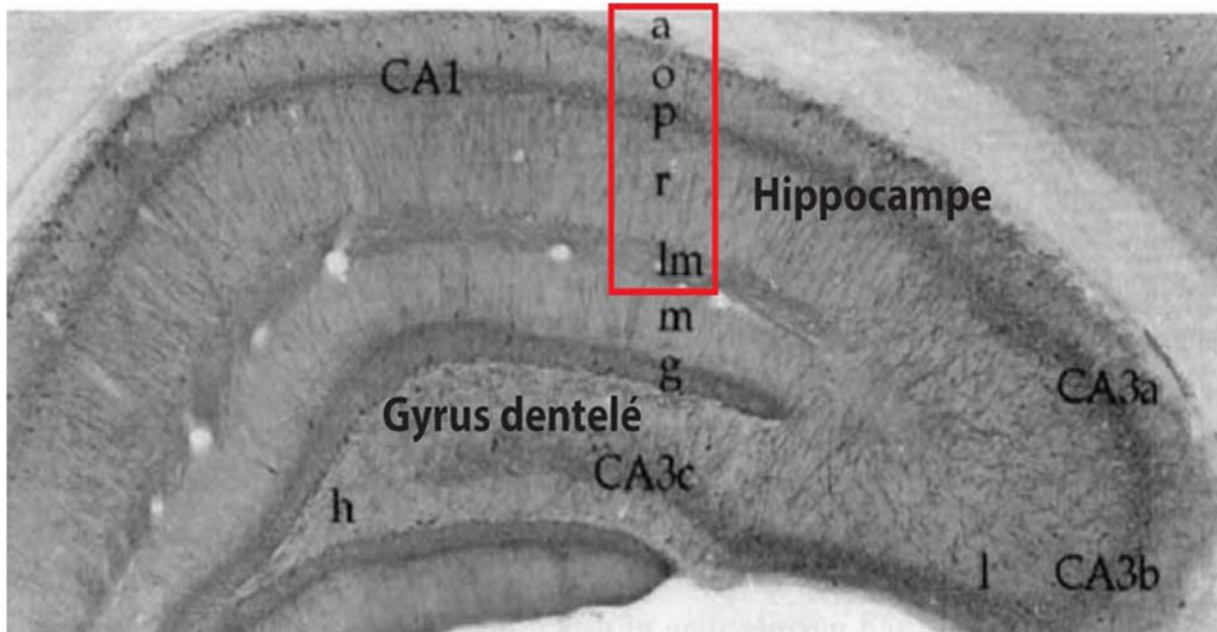


Fig. 1.2 Organisation laminaire de l'hippocampe. Photomicrographie d'une coupe coronale d'hippocampe où on peut observer les différentes couches du CA1 de l'hippocampe (encadré rouge) et du gyrus dentelé. CA1 : (a) alveus, (o) oriens, (p) pyramidales, (r) radiatum et (lm) lacunosum-moleculare. Sous-régions CA3a, CA3b et CA3c : (l) lucidum. Gyrus dentelé : (m) moléculaire, (g) granulaire et (h) hile. Figure tirée et adaptée de (Freund and Buzsaki 1996).

1.2.3 Connectivité intra- et extra-hippocampique du CA1

La région d'intérêt dans le présent mémoire est l'aire CA1 hippocampique. De ce fait, les afférences synaptiques décrites ici seront particulièrement propre à cette région. Le CA1 reçoit donc des afférences du CA3, du CA2 et du cortex entorhinal, ainsi que du septum médian (SM) et de façon plus inusitée du subiculum (Jones and McHugh 2011). Les neurones excitateurs du CA1 reçoivent des connexions synaptiques de la part des afférences cholinergiques et GABAergiques des neurones du SM, pendant que les interneurons du CA1 reçoivent une grande majorité des afférences de neurones GABAergiques du SM. Des afférences glutamatergiques du SM sont de plus faible importance, mais font synapses avec les cellules excitatrices et inhibitrices du CA1 (Andersen, Morris et al. 2006, Basu and Siegelbaum 2015).

1.2.4 Circuit tri-synaptique de l'hippocampe

Le circuit tri-synaptique consiste en un circuit intrinsèque à l'hippocampe, la voie principale de l'acheminement de l'information et se fait presque particulièrement sous un flux d'information unidirectionnel (Figure 1.3).

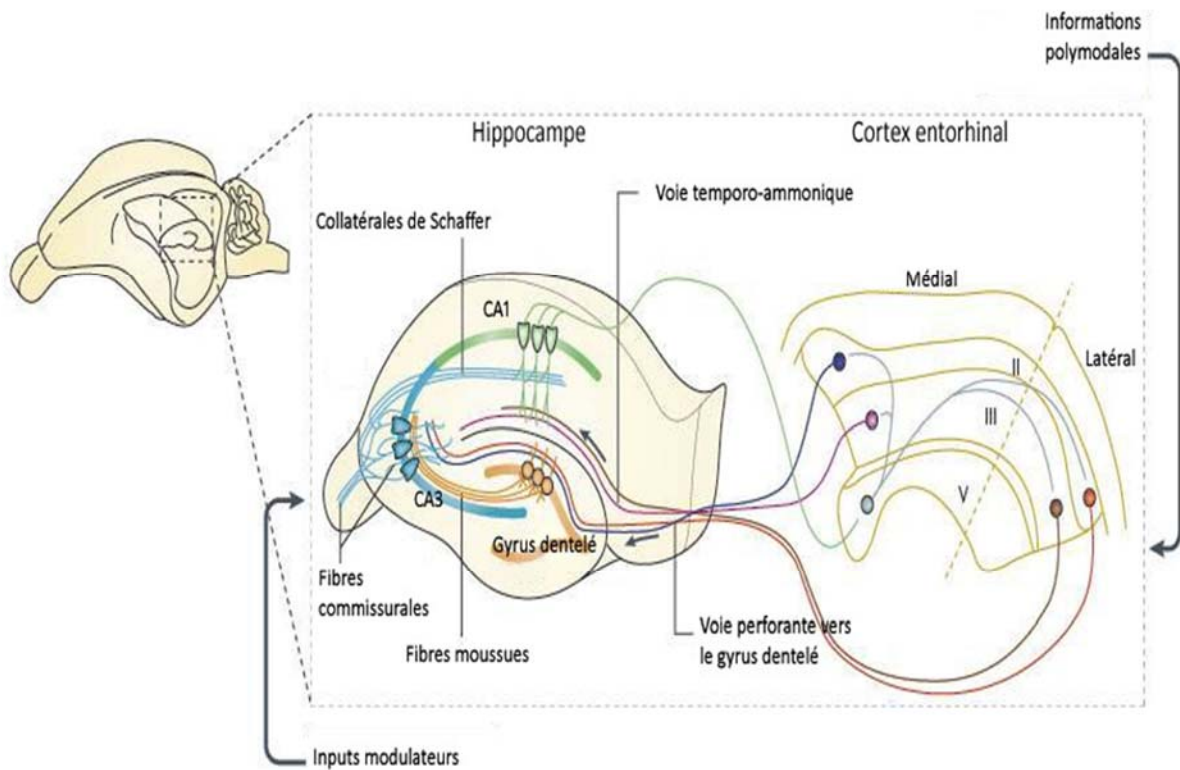


Fig. 1.3 Circuit tri-synaptique de l'hippocampe. Figure tirée et adaptée de (Neves, Cooke et al. 2008).

1.2.4.1 La voie perforante

La voie perforante est constituée des fibres axonales provenant des neurones localisés dans la couche 2 du cortex entorhinal médian et latéral, et forme des connexions synaptiques excitatrices sur les dendrites des cellules granulaires du gyrus dentelé. Les axones spécifiques du cortex entorhinal latéral innervent le tiers distales des dendrites du GD tandis que celles spécifiques du cortex entorhinal médian innervent le tiers médian (Neves, Cooke et al. 2008). Une faible quantité

de projections sont issues des couches 5 et 6 du cortex entorhinal (Andersen, Morris et al. 2006). Des projections de longues distances sont également présentes vers le CA1 à partir de la couche 3 du cortex entorhinal, se projetant aussi vers le subiculum et caractérisé comme la voie temporo-ammonique (Witter, Wouterlood et al. 2000).

1.2.4.2 Les fibres moussues

Les fibres axonales des cellules granulaires du gyrus dentelé forment les fibres moussues. Ils donnent formation à d'importantes synapses en passant, innervant les dendrites proximales apicales des cellules pyramidales du CA3 (Neves, Cooke et al. 2008). Le CA3 de l'hippocampe est l'unique cible synaptique du gyrus dentelé (Andersen, Morris et al. 2006).

1.2.4.3 Les collatérales de Schaffer

Les collatérales de Schaffer sont issues des fibres excitatrices des cellules principales du CA3 dirigées vers le CA1 de l'hippocampe. Ces axones se connectent de manière dense dans le *stratum radiatum* et le *stratum oriens*. Elles font synapses spécifiquement au niveau des dendrites apicales des cellules pyramidales du CA1 dans le radiatum, et dans une plus faible proportion dans les dendrites basales de l'oriens (Andersen, Morris et al. 2006). Certains interneurons localisés dans le radiatum sont aussi propres à recevoir des projections des collatérales de Schaffer permettant une désinhibition directe de la voie des CS (Neves, Cooke et al. 2008).

1.3 Neurotransmission synaptique de l'hippocampe

Les neurones excitateurs et inhibiteurs présentés dans cette section sont dans l'intérêt de l'étude seulement. L'inventaire de tous les types excitateurs n'est pas l'objectif, mais il faut savoir qu'il existe une transmission cholinergique excitatrices également. De même pour la transmission inhibitrice où une transmission glycinergique peut être inhibitrice également (Andersen, Morris et al. 2006).

1.3.1 Neurones excitateurs

Les récepteurs des neurotransmetteurs peuvent activer directement ou indirectement les canaux ioniques. Certains canaux sont directement activés par un ligand et s'ouvrent laissant

passer un flux spécifique d'ions. Ils sont dénommés récepteurs-canaux ou canaux ionotropiques. D'autres canaux sont activés par l'intermédiaire d'un récepteur couplé aux protéines G (RCPG), ce sont des récepteurs à 7 passages transmembranaires dénommés récepteurs métabotropiques. Les effecteurs du récepteur RCPG sont les protéines G constitué de trois sous-unités, $G\alpha$, $G\beta$ et $G\gamma$. Comme exemple, l'activation des récepteurs ionotropiques au glutamate est un mécanisme essentiel pour l'induction de plusieurs formes de plasticité synaptique hébienne tandis que l'activation des récepteurs métabotropiques ont un rôle plus modulateur dans ce processus (Kandel, Schwartz et al. 2000, Andersen, Morris et al. 2006, Willard and Koochekpour 2013).

1.3.1.1 Transmission glutamatergique

Afin d'introduire la transmission glutamatergique pour la spécificité du projet de maîtrise, nous allons présenter principalement les récepteurs glutamatergiques métabotropiques (mGluRs) de type 1 et de type 5 sensible au neurotransmetteur glutamate. Ces récepteurs sont des récepteurs à 7 passages membranaires dimériques qui permettent une réponse synaptique lente via l'intermédiaire de seconds messagers intracellulaires. Au total, il en existe 8 identifiés, de mGluR1 à mGluR8 classés sous 3 familles basé sur leur séquence similaire, leurs propriétés pharmacologiques et leur mécanisme de transduction du signal. Les mGluRs de type I incluent les sous-type 1 et 5, ceux de types II incluent les sous-types 2 et 3 et enfin ceux de types III incluent les mGluR4, les sous-types 6 à 8 (Pin and Duvoisin 1995). Le domaine synaptique diffèrent entre les groupes, de ce fait, les mGluR1 sont préférentiellement exprimés au domaine post-synaptique (Niswender and Conn 2010).

1.3.1.2 Cellules pyramidales – région CA1

Nous pouvons retrouver des cellules pyramidales dans l'aire CA3, CA2 et CA1. Cependant, les cellules pyramidales étudiées dans ce contexte-ci se retrouvent dans la région CA1. Ce sont les cellules principales du réseau et celles-ci se distinguent des cellules non pyramidales. Ce sont des cellules intégralement glutamatergiques et excitatrices. Les cellules pyramidales du CA1 ont une organisation dendritique spécifique, soit un arbre dendritique basal qui s'arborise dans le stratum oriens, un arbre dendritique proximal qui s'arborise dans le stratum radiatum et enfin une arborisation dendritique distale dans le stratum lacunosum-moleculare (Andersen,

Morris et al. 2006). L'arborisation dendritique des cellules pyramidales du CA1 a été rapporté comme étant une arborisation homogène contrairement à ceux du CA3 par exemple (Pyapali, Sik et al. 1998). Cependant, une homogénéité de l'arborisation ne réfère absolument pas à une homogénéité fonctionnelle.

1.3.2 Neurones inhibiteurs

Les interneurones GABAergiques est une famille d'interneurones inhibiteurs composant environ 15-20% des neurones corticaux (Pelkey, Chittajallu et al. 2017). Dans cette famille, il existe une grande variété de types de neurones GABAergiques dépendant de la structure cérébrale et de la région au sein des mêmes structures. Une même classe peut même avoir des fonctions différentes d'une région à une autre.

1.3.2.1 Transmission GABAergique

La transmission GABAergiques se fait principalement par les neurones exprimant le GABA et la modulation GABAergique ne s'exprime pas seulement avec une diminution de l'excitation du réseau. Ces interneurones peuvent être connectés entre eux tel que le montre les interneurones exprimant le peptide vasointestinal (VIP) (Karnani, Jackson et al. 2016). L'augmentation de l'activité synaptique sur certaines synapses est due ainsi par désinhibition et peut être exprimée par application de divers protocoles de téτανisation tel que la stimulation en bouffée thêta (SBT) et la stimulation à haute fréquence (SHF). Malgré ce fait, la téτανisation par SBT est considéré plus physiologique qu'une téτανisation classique à 100 Hz puisque l'hippocampe est sujet à des oscillations thêta lors de tâches exploratrices (Buzsaki and Watson 2012). La dépolarisation exprimée par l'entrée de calcium via les récepteurs AMPA peut être réprimée par l'activation par SBT des GABA_AR (ionotropiques) post-synaptique bloquant la dépolarisation et l'entrée dans les cellules. La SBT active également les récepteurs GABA_B (métabotropiques) localisés au domaine pré-synaptique inhibiteur. Cela a un effet de rétroaction sur la libération du GABA. Ainsi, les interneurones GABAergiques sont reconnus pour moduler de façon sélective le réseau et peuvent avoir un effet final excitateur ou inhibiteur.

1.3.2.1.1 Interneurones de l'hippocampe

1.3.2.1.1.1 Classification – diversité de la région CA1

Il existe une grande variété d'interneurones et leur classification se base principalement sur leurs propriétés d'excitabilité, leur morphologie, leurs marqueurs moléculaires, ainsi que par leur connectivité. Seulement la région CA1 en compte plus de 21 types (Figure 1.4) et parfois une superposition de certains paramètres de classification rend difficile la différenciation des divers types (Kepecs and Fishell 2014). Le rôle spécifique de tous les types est un défi majeur toujours de l'actualité.

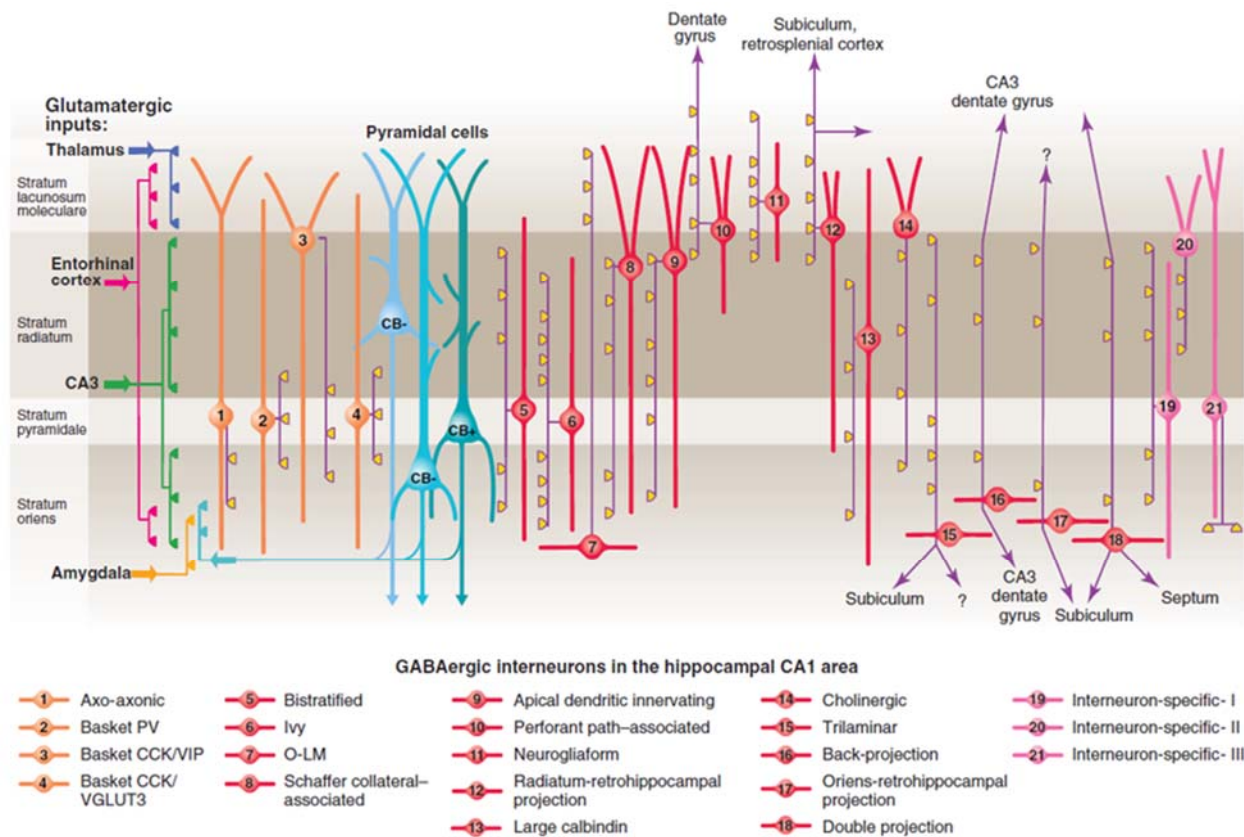


Fig. 1.4 Diversité des interneurones GABAergiques de la région CA1 hippocampique. Il existe plus de 21 types d'interneurones différents seulement dans l'aire CA1 hippocampique accompagnant les cellules pyramidales, montrant une riche diversification du contrôle locale de la transmission synaptique (Klausberger and Somogyi 2008).

1.3.2.1.1.2 Interneurones exprimant la somatostatine

Dans le présent mémoire, nous allons porter une attention particulière aux interneurones exprimant le peptide somatostatine. Ces neurones peuvent comprendre une famille comportant divers sous-types, tel que les cellules bistratifiées, localisées dans l'oriens et se connectant principalement au niveau du radiatum pour inhiber les dendrites proximales des cellules pyramidales. Elles sont majoritairement verticales et reçoivent aussi des connections synaptiques des interneurones O-LM (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Muller and Remy 2014). Les O-LM, quant à eux sont des interneurones inhibiteurs se retrouvant dans l'oriens à la frontière de l'alveus, leur arborisation dendritique se fait principalement dans l'oriens, mais leur projection axonale montre des synapses en passant majoritairement dans le *stratum lacunosum-molculare* et dans une moindre mesure, dans le *stratum radiatum* (Tricoire, Pelkey et al. 2011). Leur fonction principale est l'inhibition des dendrites distales et la désinhibition des dendrites proximales des cellules pyramidales. Des neurones de projections peuvent également être retrouvés et il est possible d'observer la direction de leur projection axonale vers l'alveus, possiblement pour une projection de longue distance hippocampo-septal (Somogyi and Klausberger 2005).

1.4 La plasticité synaptique dans l'hippocampe

La plasticité synaptique est la capacité de modifier de manière bidirectionnelle l'efficacité de la transmission synaptique en fonction des stimuli environnementaux perçus (Nicoll and Malenka 1995). Deux types de modulation existent, soit la potentialisation à long terme (PLT) ou encore la dépression à long terme (DLT). Mon étude électrophysiologique durant ma maîtrise porte principalement sur la PLT, ce pourquoi je ne m'attarderai pas sur le fonctionnement de la dépression. Une potentialisation, soit un renforcement synaptique peut différer d'un neurone à un autre selon leur mécanisme d'induction et leur décours temporel. En premier lieu, nous décrirons les PLT du circuit tri-synaptique de l'hippocampe.

1.4.1 Les PLT du circuit tri synaptique excitateur (voie perforante-fibres moussues-CS) possèdent des mécanismes différents

La PLT de la voie perforante est similaire à la PLT de la voie des collatérales de Schaffer. En ce sens, il sera important d'expliquer cette dernière dans le but de comprendre son homologue.

En premier lieu, la distinction de l'induction mécanistique se fait au niveau des récepteurs impliqués dans chacune des PLT. La potentialisation à long terme de la voie des fibres moussues est une PLT indépendante des récepteurs NMDA. Elle se caractérise par une activation non-hébbienne, c'est-à-dire que son induction ne requiert ni dépolarisation, ni élévation intracellulaire de calcium dans le domaine post-synaptique. Elle s'exprime principalement de façon pré-synaptique. L'influx calcique étant plutôt pré-synaptique, il active les adénylates cyclases AC1 et AC8 entraînant une augmentation de la concentration d'AMP cyclique (AMPc). Celui-ci est alors responsable de l'augmentation de la libération de neurotransmetteurs en activant la PKA phosphorylant des protéines régulatrices de l'exocytose des vésicules synaptiques (Rab3A et RIM1 α) et subséquemment module l'activité des canaux HCN activés par hyperpolarisation (McBain 2008). Les cellules pyramidales du CA3 reçoivent donc des synapses excitatrices de la voie des fibres moussues, mais aussi d'inputs excitateurs d'autres cellules du CA3, notamment dans le rappel d'un contexte dépendant de l'hippocampe ayant été formé précédemment (Read, Nenov et al. 1994).

1.4.1.1 La PLT associative et NMDAR dépendante : les collatérales de Schaffer

Les cellules pyramidales du CA1 reçoivent des afférences excitatrices provenant du CA3 par les fibres des collatérales de Schaffer. Cette voie peut être potentialisée par application d'une téτανisation de stimulation à haute fréquence (Kandel 2001). Cette potentialisation est spécifique des cellules pyramidales conditionnées par les trains de stimulation à haute fréquence (Andersen, Sundberg et al. 1977). Elle est caractérisée comme une PLT associative puisque lorsque la faible stimulation d'une voie afférente insuffisante pour induire une PLT s'associe à une voie synaptique renforcée, alors une PLT devient présente dans la voie plus faible (McNaughton, Douglas et al. 1978). Elle est aussi dite coopérative puisque le couplage de deux afférences sur une même cible, renforce la PLT dans les 2 voies (Lee 1983). La PLT de la voie CS-cellules pyramidales est hébbienne, c'est-à-dire qu'elle nécessite une activité coïncidente de part et d'autre de la fente synaptique, aux domaines pré- et post-synaptiques. Les récepteurs NMDA jouent un rôle important dans son induction. Une forte polarisation est requise pour enlever le blocage dû au Mg²⁺ lors de leur activation par le glutamate. Ainsi, au niveau pré-synaptique, il doit y avoir libération du neurotransmetteur glutamate et au niveau post-synaptique, il doit y avoir une dépolarisation

amenant une entrée de calcium accrue dans les dendrites (Scharfman and Sarvey 1985, Wigstrom and Gustafsson 1985). L'entrée de calcium est possible grâce aux récepteurs NMDA perméable au calcium. La forte augmentation de calcium active la Ca^{2+} -calmoduline-kinase II (CaMKII) et la protéine kinase A (PKA) exprimant de cette façon la potentialisation (Andersen, Morris et al. 2006).

1.5 Décours temporel de la PLT des collatérales de Schaffer

1.5.1 La potentialisation à court terme

La potentialisation à court terme ne dépend pas de l'activité des kinases, ni de la synthèse protéique et dure moins d'une heure. Elle correspond à la grande augmentation de la réponse synaptique observée suivant l'application d'une SHF ou d'une SBT. Elle finit par perdre en magnitude après seulement quelques minutes (Anwyl, Mulkeen et al. 1989, Andersen, Morris et al. 2006). Elle serait dépendante des récepteurs NMDA dépendant de l'induction de la PLT précédemment décrite.

1.5.2 La phase précoce de la potentialisation à long terme

L'un des éléments clé dans l'expression de la phase précoce de la potentialisation est l'influx calcique post-synaptique dû à l'activation des NMDARs. Le Ca^{2+} est reconnu pour être capable d'activer plusieurs protéines, incluant les kinases qui sont des enzymes phosphorylant d'autres protéines. Les principales protéines phosphorylées dans l'induction de la phase précoce de la PLT sont la protéine kinase C, la protéine kinase Ca^{2+} /calmoduline-dépendante II (CaMKII), la protéine kinase A (PKA) et la *Mitogen-Activated Protein Kinase* (MAPK), mentionnées selon l'ordre chronologiques de leur découverte (Lovinger, Wong et al. 1987, Malinow, Madison et al. 1988, Frey, Huang et al. 1993, English and Sweatt 1997).

La PKC permet notamment l'expression de nouveaux AMPARs à la surface membranaire en phosphorylant la sous-unité GluA1 (Boehm, Kang et al. 2006). La CaMKII est activée par la formation d'un complexe. L'entrée de Ca^{2+} post-synaptique suivant l'activation des NMDARs se

lient d'abord à la calmoduline (CaM) pour former le complexe $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$. C'est ce complexe qui active la CaMKII, un holoenzyme composé de 12 sous-unités formant deux anneaux hexamériques (Lisman, Yasuda et al. 2012). Une fois la PLT activée, la CaMKII reste active de manière soutenue, ce pourquoi elle est considérée comme une composante majeure de l'expression de la PLT. Elle phosphoryle la sous-unité GluA1 des AMPARs (Luscher and Malenka 2012). Cette phosphorylation permet d'augmenter la conductance des canaux AMPA déjà présents à la surface membranaire. La CaMKII phosphoryle également une autre protéine, soit la stargazine, permettant la liaison des AMPARs sur la densité post-synaptique. Cette protéine peut se fixer à la PSD95, favorisant l'insertion de nouveaux AMPARs. L'origine des nouveaux AMPAR est controversée. Il semblerait que les nouveaux récepteurs auraient une origine extra-synaptique ainsi qu'intracellulaire afin de recomposer un bassin de récepteurs extra-synaptiques (Derkach, Barria et al. 1999, Makino and Malinow 2009). L'insertion se ferait non seulement aux synapses fonctionnelles, mais également au niveau des synapses silencieuses. Celles-ci possèdent uniquement des NMDARs et ne sont pas actives en condition basale (Hanse, Seth et al. 2013). Elles peuvent par conséquent devenir fonctionnelles après l'insertion de nouveaux AMPARs au cours de la PLT (Isaac, Nicoll et al. 1995, Liao, Hessler et al. 1995).

La PKA semble avoir un rôle majeur lors du développement post-natal, jouant un rôle plus important que la CaMKII chez les animaux néonataux et juvéniles (Yasuda, Barth et al. 2003, Hanse, Seth et al. 2013). La complexe $\text{Ca}^{2+}/\text{CaM}$ activant la CaMKII, plutôt que d'activer celui-ci, dans ce cas activerait l'adénylate cyclase, menant à la formation d'AMPc qui active la PKA (Frey, Huang et al. 1993). Une fois activée, la PKA est capable de phosphoryler les sous-unités GluA4 des AMPARs menant à leur insertion au niveau de la membrane post-synaptique (Esteban, Shi et al. 2003). Les types de AMPARs différencient donc la PLT du stade développemental de la PLT à un stade adulte. L'insertion des AMPARs aux synapses silencieuses est ainsi le principal mécanisme d'expression de la PLT durant les 2 premières semaines de naissance pour ensuite diminuer à un stade plus avancé (Hanse, Seth et al. 2013). Plus tard dans le développement, la PKA peut également phosphoryler la sous-unité GluA1, mais doit également être phosphorylée par la CaMKII pour que les AMPARs puissent être incorporés à la membrane. La PKA semblerait

favoriser la formation d'un réservoir de AMPARs susceptibles d'être incorporé à la surface membranaire par la CaMKII lors de l'induction de la PLT (Esteban, Shi et al. 2003).

La voie cellulaire des MAPK est impliquée dans plusieurs fonctions tel que la prolifération, la différenciation, la mort cellulaire (Pearson, Robinson et al. 2001) et la plasticité synaptique (Thomas and Huganir 2004). Cette voie a la particularité d'impliquer une succession de différentes kinases en amont des MAPK. En effet, l'activation des MAPK nécessite d'être phosphorylé par des MAP kinase kinases (MAP2K) qui sont elles-mêmes phosphorylées par des MAP kinase kinases (MAP3K).

1.5.3 La phase tardive de la potentialisation à long terme

La PLT tardive est observée plusieurs minutes après son induction et peut persister plusieurs heures (Figure 1.5). L'induction de la phase tardive de la PLT nécessite généralement plusieurs trains de SHF (Park, Volianskis et al. 2014) et dépend de la synthèse protéique. Elle est effectivement bloqué en présence d'anisomycine, un inhibiteur de la synthèse protéique sans effet sur la phase précoce de la PLT (Frey, Krug et al. 1988). Cette phase implique une croissance synaptique, ainsi la synthèse protéique assure les modifications structurales et synaptiques afin de maintenir la PLT (Park, Volianskis et al. 2014). Les implications incluraient des modifications pré-synaptiques, comme une augmentation des sites de libération des neurotransmetteurs, et des changements post-synaptiques, comme l'insertion de nouveaux AMPARs.

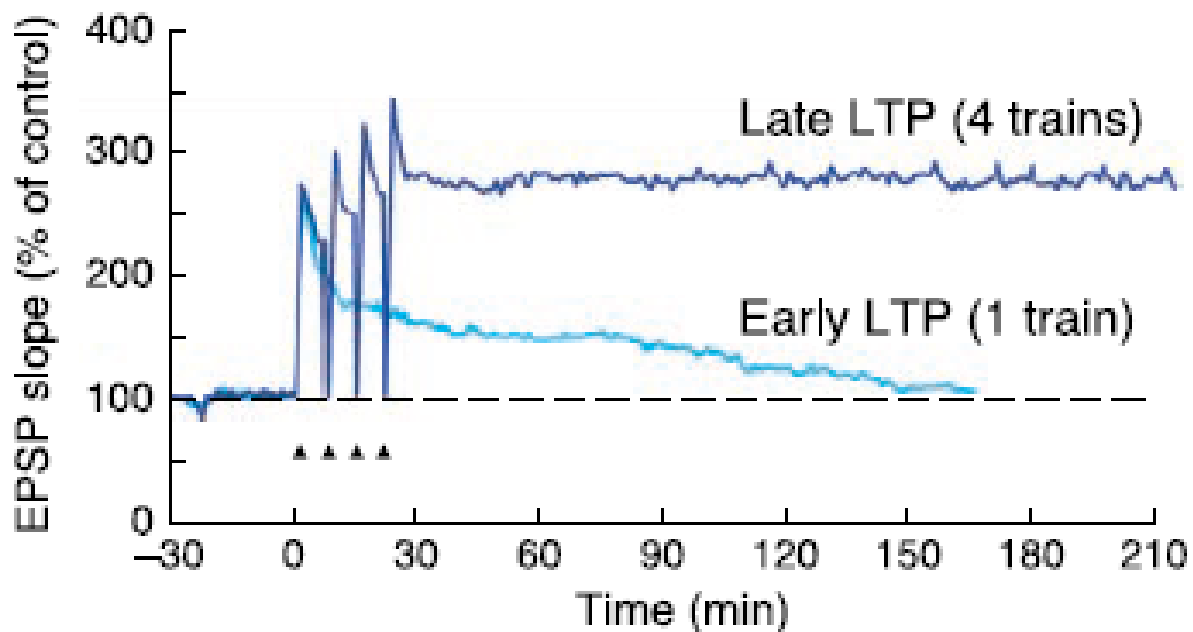


Figure 1.5. Déroulement temporel de la PLT en phase précoce et tardive. Dans les deux cas, la PLT a été induite grâce à un train (phase précoce) ou plusieurs trains (phase tardive) de stimulation à haute fréquence. (Kandel 2001)

1.6 La plasticité synaptique des interneurones

1.6.1 La PLT hébbienne des SOM et NMDAR indépendante

L'activité des cellules pyramidales est grandement influencée par le réseau d'interneurones de l'hippocampe. Ceux-ci contrôlent leur excitabilité, participent à leur synchronisation et à leur activité oscillatoire (Freund and Buzsaki 1996). La modification de l'efficacité des synapses des interneurones est donc susceptible d'avoir des répercussions sur l'activité des cellules pyramidales. Par exemple, l'induction d'une PLT aux synapses excitatrices des interneurones situés à la frontière entre le *stratum oriens* et l'*alveus* (O/A) augmente l'amplitude des réponses inhibitrices polysynaptiques des cellules pyramidales du CA1 (Lapointe, Morin et al. 2004). De façon globale, la plasticité synaptique aux synapses des interneurones augmenterait considérablement la capacité d'encodage de l'hippocampe (Kullmann and Lamsa 2007). D'ailleurs, la PLT aux synapses de certains interneurones est essentielle à la détection précise de la coïncidence temporelle des entrées des cellules pyramidales (Lamsa, Heeroma et al. 2005). De plus, l'utilisation de techniques

stimulant les interneurons de façon monosynaptique a permis de démontrer que la plasticité pouvait être induite directement aux synapses des interneurons (Alle, Jonas et al. 2001, Perez, Morin et al. 2001, Lapointe, Morin et al. 2004, Lamsa, Heeroma et al. 2005, Kullmann and Lamsa 2007).

L'utilisation d'un protocole de stimulation minimale a permis de démontrer que la PLT pouvait être induite directement aux synapses des interneurons O/A (Perez, Morin et al. 2001). Celle-ci nécessite la stimulation du récepteur mGluR1a et une élévation postsynaptique de Ca^{+2} et ne dépend pas des récepteurs NMDA (Perez, Morin et al. 2001, Lapointe, Morin et al. 2004). L'étude des réponses calciques dendritiques provoquées par la stimulation synaptique des interneurons a permis d'établir que les récepteurs mGluR de groupe I/II contribuent aux élévations calciques lorsque la stimulation en bouffées thêta est couplée à une dépolarisation (Topolnik, Congar et al. 2005). L'étude des réponses calciques produites par la stimulation du récepteur mGluR1a a permis d'identifier deux sources principales favorisant l'élévation de calcium postsynaptique : la libération à partir de réserve intracellulaire du réticulum endoplasmique (RE) et l'entrée via les canaux cationiques non sélectifs de la famille des *transient receptor potential* (TRP) (Topolnik, Azzi et al. 2006).

Plus récemment, l'utilisation de souris transgéniques par recombinaison Cre-lox a permis l'étude électrophysiologique des interneurons de manière plus spécifique et a servi à expérimenter l'effet de certaines délétions ou divers protocoles expérimentaux. Par exemple, l'utilisation d'un protocole de stimulation en bouffée thêta (SBT) aux afférences excitatrices induit une PLT précoce chez les interneurons exprimant la somatostatine (SOM-INS). Celle-ci à son tour semble réguler la PLT précoce des afférences provenant du CA3 et se dirigeant vers le CA1 (Figure 1.6).

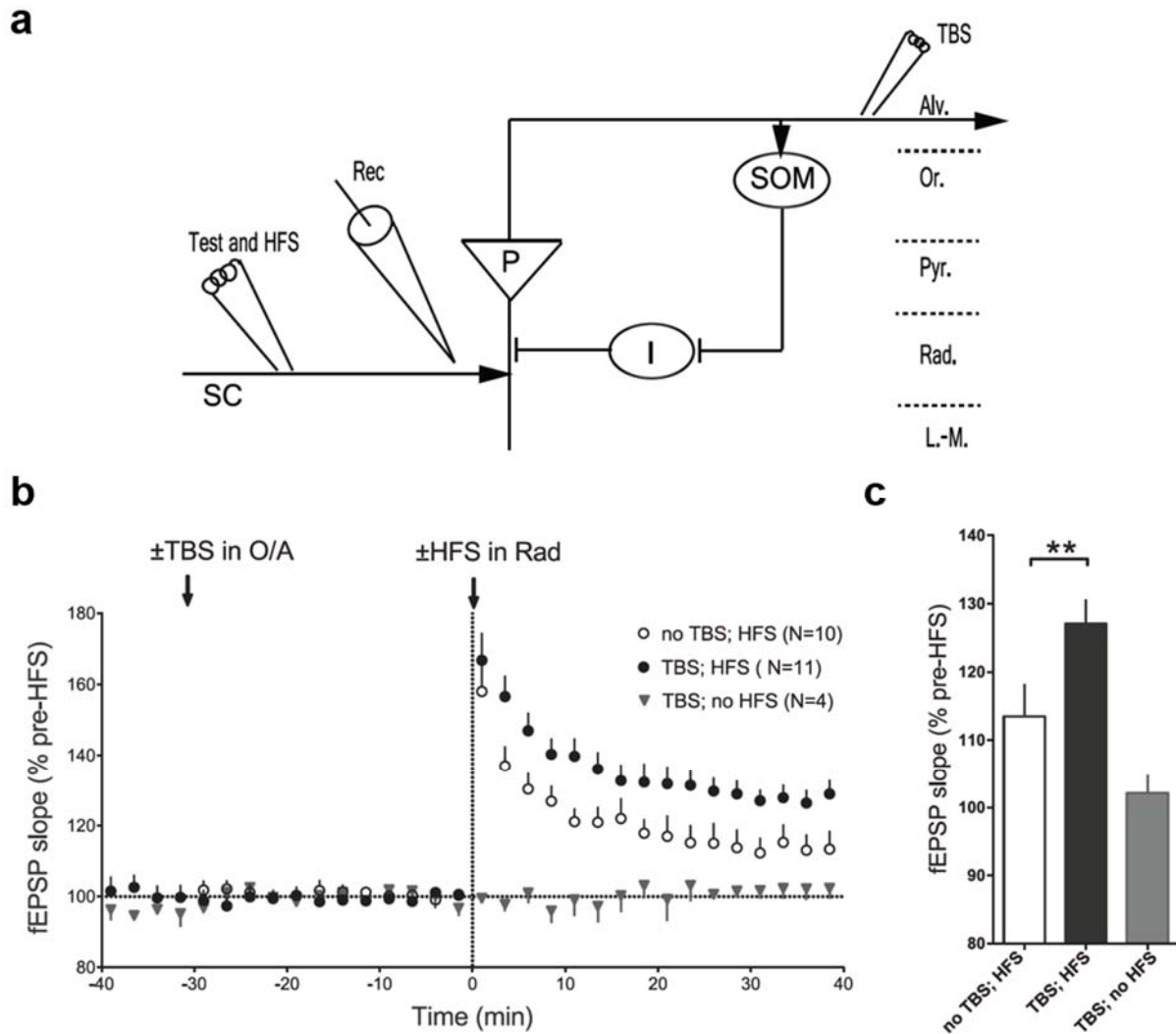
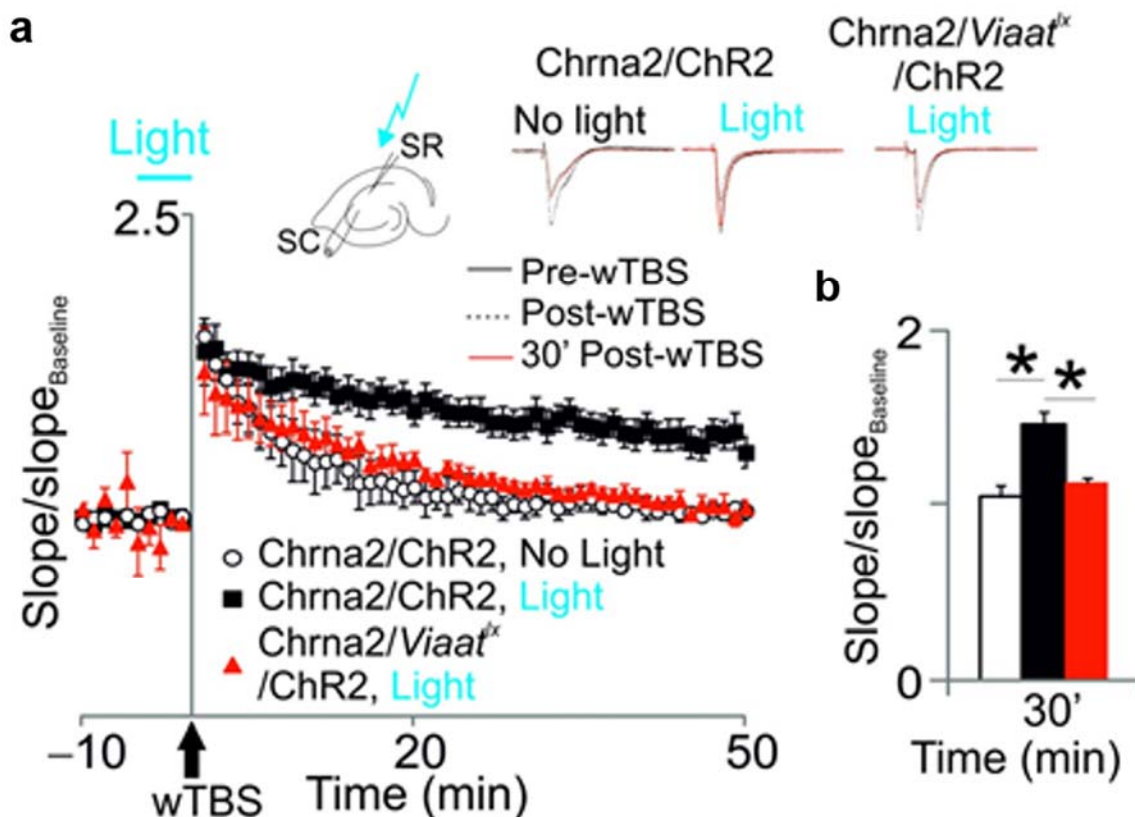


Fig. 1.6 Régulation de la PLT de la voie des collatérales de Schaffer par stimulation en bouffée thêta dans l'oriens/alveus.

a. Diagramme expérimental de l'arrangement de l'enregistrements extracellulaire et des électrodes de stimulation, en plus des voies et des cellules impliquées dans le CA1. P, Cellule pyramidale; I, interneurone inhibiteur; SC, voie des collatérales de Schaffer; Rec, électrode d'enregistrement; Alv, alvéus; Or, stratum oriens; Pyr, stratum pyramidale; Rad, stratum radiatum; L-M, stratum lacunosum/moleculaire. Les flèches et les barres représentent les synapses excitatrices et inhibitrice, respectivement. **b.** Sommaire de la pente des PPSEc reporté pour chacun des enregistrements, montrant une plus grande magnitude de la PLT induite par SHF lorsque précédé par SBT dans le stratum oriens-alveus. **c.** Sommaire représenté en histogramme montrant une augmentation de la PLT induit par SHF mesuré sur la pente des PPSE à 30 min post-induction après le conditionnement de la SBT dans le stratum O/A en comparaison avec le groupe contrôle sans SBT (pas de SBT, SHF, ANOVA, $**p=0.0052$) (Vasuta, Artinian et al. 2015).

Une autre étude montre un marquage différent quant aux cellules ciblées. Cette fois, en ciblant les interneurones O-LM directement, un important sous-type d'interneurone exprimant le peptide somatostatine. Dans cette étude, il est démontré que par stimulation optogénétique des interneurones O-LM, il est possible de réguler la PLT précoce des collatérales de Schaffer induite par application d'une faible SBT (Figure 1.7).



Leao N R et al., 2012

Fig. 1.7 Les cellules OLM^{α2} renforcent la PLT de la voie des collatérales de Schaffer.

a. Potentialisation des synapses des CS dans les souris *Chrna2-cre/ChR2* et *Chrna2-cre/Viaat^{flx}/ChR2* en condition contrôle (sans luminescence) et lors de l'application d'une impulsion de lumière appliquée 5 min avant et durant une faible SBT. Les traces au-dessus montrent les PPSEc normalisés au préalable (en noir), 10 min (en ligne pointillée noir) et 30 min après la faible SBT (wTBS). **b.** Histogramme montrant la moyenne normalisée de la pente 30 min après une faible SBT. Les barres d'erreurs représentent \pm s.e.m (erreur standard moyenne) (Leao, Mikulovic et al. 2012).

1.6.2. La PLT persistante chimiquement induite des SOM

Une PLT hébbienne peut également être induite aux synapses glutamatergiques des interneurons O/A par l'application d'un agoniste des mGluR1/5. L'activation chimique, soit des mGluR1 seuls ou des mGluR5 seuls semblent suffire à l'induction de la PLT persistante. Elle est indépendante des NMDAR et a lieu strictement aux synapses excitatrices qui comportent des CP-AMPA (Le Vasseur, Ran et al. 2008), c'est-à-dire aux synapses excitatrices établies par les collatérales des cellules pyramidales du CA1 envers les interneurons O/A.

Un type de PLT hébbienne et induite chimiquement a été mise en évidence aux synapses excitatrices des interneurons O/A (Ran, Laplante et al. 2009). Cette PLT est dite persistante puisqu'elle dure au moins 24 heures et son induction est dépendante des mGluR1. Cette PLT persistante est dépendante de la transcription et de la traduction. La stimulation répétée des mGluR1 conduit à l'activation des voies de signalisation de la phosphoinositide-3-kinase (PI3K) et de ERK où ensemble, ces deux voies activent le *mechanistic target of rapamycin* (mTOR). L'activation de la voie de mTOR mène à la phosphorylation des *4E-Binding Protein* (4E-BP), ce qui a pour conséquence de stimuler l'initiation de la traduction (Ran, Laplante et al. 2009). L'activation mGluR1-dépendante de la voie ERK contribue aussi à l'initiation de la transcription via la phosphorylation de CREB (Ran, Laplante et al. 2012).

La PLT persistante des interneurons O/A s'exprime de façon présynaptique par une augmentation de la quantité de neurotransmetteurs libérée et de façon postsynaptique par l'augmentation de la conductance unitaire et l'insertion de récepteurs glutamatergiques (Ran, Laplante et al. 2012). Par la persistance de sa potentialisation et sa dépendance à la transcription et à la traduction, la PLT persistante est un phénomène intéressant pour l'étude du rôle de la plasticité des interneurons dans l'apprentissage et la mémoire dépendant de l'hippocampe.

1.7 Voie de signalisation de mTORC1 et mTORC2

Ce sont deux sérine/thréonine kinase atypique présentes au sein de deux complexes différents. Le premier étant mTOR *complex* 1 (mTORC1) qui est composé de mTOR, Raptor, GβL, DEPTOR et est inhibé par rapamycin. Le deuxième est mTOR *complex* 2 (mTORC2), qui

est composé de mTOR, Rictor, GβL, Sin1, PRR5/Protor-1 et DEPTOR. Nous allons essentiellement discuter dans cette section de mTORC1 spécifique à l'étude, mais il est important de savoir que les voies de signalisation des deux complexes peuvent interagir ensemble (Julien, Carriere et al. 2010). Brièvement, le complexe 2 de mTOR promeut la survie cellulaire en activant Akt, régule la dynamique du cytosquelette en activant PKCα et contrôle le transport ionique et la croissance cellulaire via la phosphorylation de SGK1. Ce dernier complexe est également impliqué dans certaines formes de plasticité telle que la dépression à long terme des mGluR (Zhu, Chen et al. 2018).

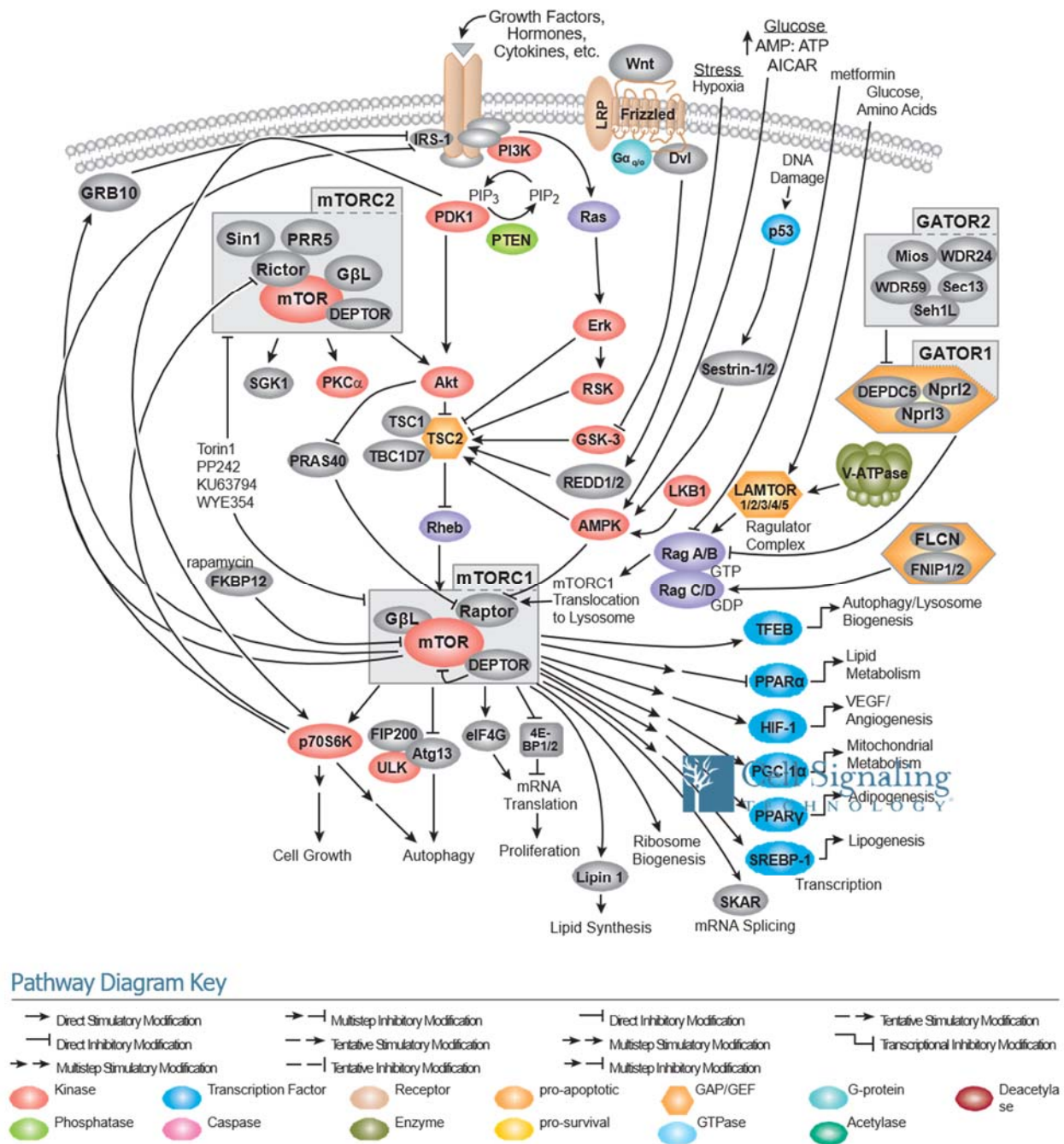


Fig. 1.8 Voies de signalisation de mTORC1 et mTORC2

Figure tirée de <https://www.cellsignal.com> à partir des revues sélectionnées dans l'élaboration du schéma, créé en septembre 2008 et révisé en juin 2014 (Dunlop, Dodd et al. 2009, Dowling, Topisirovic et al. 2010, Hoeffler and Klann 2010, Neufeld 2010, Zoncu, Efeyan et al. 2011, Laplante and Sabatini 2012, Laplante and Sabatini 2013).

1.7.1 Fonction mTORC1 : 1. développement 2. Plasticité synaptique à long terme

La sérine/thréonine kinase mTOR est une kinase très bien conservée durant l'évolution cellulaire qui intègre plusieurs signaux provenant de divers voies de signalisation, incluant les nutriments (acides aminés et glucose), les facteurs de croissance (insuline et facteurs de croissance similaire à l'insuline), les hormones (leptine) et le stress (par la faim, l'hypoxie et les dommages à l'ADN) pour réguler une grande variété de fonctions cellulaires des eucaryotes tels que la transcription, le renouvellement des protéines, la croissance cellulaire, la différenciation cellulaire, la survie cellulaire, le métabolisme, la balance énergétique et la réponse au stress (Watanabe, Wei et al. 2011, Saxton and Sabatini 2017).

D'autre part, les études animales montrent clairement l'implication de mTORC1 au sein de la plasticité synaptique de l'hippocampe et dans la formation de la mémoire à long-terme dépendant de l'hippocampe (Ehninger, Han et al. 2008, Gkogkas, Sonenberg et al. 2010, Hoeffler and Klann 2010). Chez les vertébrés, au niveau des dendrites synaptiques, mTORC1 est souvent associé dans l'implication de la persistance de certaines formes de potentialisation à long terme (PLT) et de dépression à long terme (DLT) qui sont induites et exprimées de manière postsynaptique (Tang, Reis et al. 2002, Cammalleri, Lutfjens et al. 2003, Hoeffler, Tang et al. 2008, Sharma, Hoeffler et al. 2010), suggérant que la traduction dépendante de mTORC1 peut contrôler le maintien de l'altération de l'expression des AMPAR aux synapses et/ou la promotion des changements structurels au sein des synapses.

1.7.2 Voie de signalisation canonique (Régulation de mTORC1)

Les observations jusqu'à maintenant montrent que certaines formes de PLT tardive ne requièrent aucune signalisation vers le noyau, mais dépendrait plutôt d'une synthèse protéique au niveau des dendrites sans nécessairement retranscrire l'ADN. Cette synthèse protéique locale impliquée dans la plasticité synaptique dépend de la voie de mTOR (Hay and Sonenberg 2004). mTOR favorise la synthèse protéique en phosphorylant et inactivant 4E-BP, un répresseur de la traduction des ARN messagers (ARNm), et en phosphorylant et activant les p70 S6 kinases 1/2 (S6K1/2) (Hay and Sonenberg 2004). L'inactivation de 4E-BP par mTORC1 cause sa dissociation d'eIF4E (*eukaryotic translation initiation factor 4*), permettant ainsi la formation du complexe

eIF4F, un complexe protéique impliqué dans l'initiation de la traduction en recrutant les ribosomes aux ARNm. Ce complexe est composé de la liaison d'eIF4E avec eIF4G, qui compétitionne avec le site de liaison commun de 4E-BP, et eIF4A (Gkogkas, Sonenberg et al. 2010, Buffington, Huang et al. 2014). Une fois les S6K1/2 phosphorylées par mTORC1, elles sont en mesure d'activer eIF4B, un cofacteur d'eIF4A, qui avec le complexe eIF4F, facilite le recrutement de ribosomes aux ARNm (Gkogkas, Sonenberg et al. 2010).

La voie de mTORC1 peut également être activée par ERK, qui peut activer S6K et inactiver TSC2 (*tuberous sclerosis complex 2*). TSC2 avec TSC1, forment un complexe qui réprime l'activité de mTOR (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009). La voie de Ras/ERK serait aussi en mesure d'activer mTORC1 plus loin en amont via la PI3K. Cette dernière permet la conversion du PIP₂ en PIP₃ qui active PDK1 (*Phosphoinositide-dependent kinase-1*) qui phosphoryle et active à son tour la protéine Akt, un répresseur de TSC2 (Buffington, Huang et al. 2014).

Outre la traduction des ARNm locaux, la transcription de nouveau ARNm peut être activé par le facteur de transcription CREB (*Cre-binding protein*) qui contrôle l'expression des gènes sous le contrôle du promoteur CRE (*cAMP Response Element*). CREB peut être activé par ERK et PKA (Impey, Obrietan et al. 1998). L'influx calcique au cours de la PLT permet la translocation de PKA et d'ERK au noyau, mais également l'activation de la CaMKIV (Marie, Morishita et al. 2005). Une fois CREB activée, elle permet la transcription de gènes dont les ARNm sont acheminés aux synapses pour être traduits en protéines nécessaires pour l'expression de la PLT persistante (Ran, Laplante et al. 2012).

Chapitre 2

But du mémoire de maîtrise

2.1. Contexte de recherche

2.1.1. Contexte générale

La plasticité synaptique à long terme est un candidat privilégié en tant que substrat cellulaire pour l'apprentissage et la mémoire (Whitlock, Heynen et al. 2006, Matsuo, Reijmers et al. 2008, Kandel, Dudai et al. 2014, Nabavi, Fox et al. 2014, Penn, Zhang et al. 2017, Choi, Sim et al. 2018). La potentialisation à long terme (PLT) a extensivement été étudiée aux synapses excitatrices des cellules pyramidales de l'hippocampe dans le cadre de l'apprentissage et la mémoire (Nicoll 2017). Elle a ainsi été caractérisée par une phase précoce, durant quelques minutes, dans laquelle des changements post-traductionnels entrent en jeux et une phase tardive, durant des heures, dans laquelle la transcription et la traduction interviennent (Abel, Nguyen et al. 1997, Kandel, Dudai et al. 2014). Notre intérêt est davantage porté sur la PLT dans les interneurons et leur possible rôle dans l'apprentissage. D'ailleurs, les afférences excitatrices sur les interneurons de l'hippocampe font preuve de multiples formes de PLT avec des variations mécanistiques d'induction qui peuvent être spécifique de la région ou du sous-type d'interneurone (Pelletier and Lacaille 2008, Kullmann, Moreau et al. 2012, Hainmueller, Krieglstein et al. 2014). Cependant, le rôle de la plasticité synaptique aux synapses excitatrices sur les interneurons reste largement incompris dans le réseau hippocampique.

2.1.2. Contexte spécifique

Le laboratoire du Dr. Jean-Claude Lacaille a découvert une forme de potentialisation à long terme indépendante des récepteurs NMDA dans les interneurons exprimant la somatostatine au sein de l'aire CA1 de l'hippocampe (Ran, Laplante et al. 2009). Cette PLT est activée via les récepteurs métabotropiques glutamatergiques de type 1a (mGluR1a) et se caractérise par une activation hébienne (Perez, Morin et al. 2001, Lapointe, Morin et al. 2004). Cette PLT peut être

induite chimiquement chez les interneurons O-LM sur tranche d'hippocampe en culture, peut persister jusqu'à 24h, et est dépendante de la transcription et de la traduction (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012). Le contrôle de la traduction durant l'induction de la plasticité synaptique persistante implique l'activation des mGluR1a et la voie de signalisation de ERK, PI3 kinase et de *mechanistic target of rapamycin complex 1* (mTORC1) (Ran, Laplante et al. 2009).

Cependant, l'implication de la PLT persistante des interneurons SOM dans le fonctionnement du réseau hippocampique reste mal comprise.

2.2. Objectif de recherche

2.2.1. Objectif principal

Le but du projet était d'étudier les mécanismes de la PLT tardive aux synapses excitatrices formées par les fibres récurrentes des cellules pyramidales du CA1 sur les interneurons SOM chez la souris mature, ainsi que son rôle au sein du réseau hippocampique. Notre hypothèse était que la PLT tardive est présente chez les interneurons SOM de souris mature, est dépendante de l'activité de mTORC1, et régule la métaplasticité des cellules pyramidales du CA1.

2.2.2. Objectifs spécifiques

2.2.2.1. Potentialisation à long terme tardive dans les SOM-INS chez l'animal mature

Premièrement, nous avons déterminé si la PLT tardive peut être induite chimiquement chez la souris mature en utilisant des techniques électrophysiologiques, particulièrement le patch-clamp en mode cellule entière et voltage imposé, sur tranche aigüe de cerveau in vitro, et le système de recombinaison Cre-lox de souris transgéniques pour exprimer un gène rapporteur afin d'identifier les interneurons somatostatinergriques (souris Som-EYFP).

L'induction chimique de la PLT tardive a été basé sur le protocole d'induction utilisé précédemment sur tranches organotypiques (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012).

2.2.2.2. Inactivation de mTORC1 et PLT tardive.

Deuxièmement, nous avons déterminé si la PLT tardive est dépendante de l'activité de mTORC1 en utilisant un knock-out conditionnel de RAPTOR, un composant essentiel du

complexe mTORC1, spécifiquement chez les interneurons somatostatinerigiques (souris Som-Raptor-KO).

2.2.2.3. Facilitation de mTORC1 et PLT tardive.

Troisièmement, nous avons examiné si une augmentation de l'activité de mTORC1 facilite la LTP tardive en utilisant un knockout conditionnel d'un répresseur de mTORC1, *Tuberous Sclerosis Complex 1* (Tsc1) spécifique aux interneurons somatostatinerigiques (souris Som-Tsc1-KO).

2.2.2.4. Régulation de la métaplasticité des cellules pyramidales par la PLT tardive

Finalement, puisque la PLT précoce des interneurons somatostatinerigiques régule la métaplasticité des cellules pyramidales du CA1 (Vasuta, Artinian et al. 2015), nous avons étudié le rôle de la PLT tardive des SOM-INS à l'échelle du réseau hippocampique de l'aire CA1 en utilisant des enregistrements de potentiel de champs sur tranches de cerveau de souris transgéniques Som-Raptor-KO et Som-EYFP. Nous avons examiné l'effet de la PLT tardive des SOM-INS sur la métaplasticité des synapses des cellules pyramidales du CA1 en utilisant un protocole de stimulation électrique en bouffée thêta (SBT) de l'alveus pour l'induction de la PLT tardive chez les interneurons somatostatinerigiques et la tétnisation à haute fréquence (SHF) du stratum radiatum pour l'induction de la PLT précoce aux synapses des collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1.

Chapitre 3

3.1. Matériel et méthode

Les procédures expérimentales ont été approuvées par le Comité de déontologie de l'expérimentation sur les animaux de l'Université de Montréal.

3.1.1. Souris transgéniques

Les souris ont été hébergées en groupe de 2 à 4 par cage, avec accès libre en nourriture et eau, et un cycle normal jour/nuit de 12 heures.

Les souris *knock-in* contiennent un site d'entrée ribosomale (IRES) lié au gène de la Cre-recombinase en amont du locus *Sst* (souris $Sst^{IRES-Cre}$, Laboratoires Jackson #013044) (Taniguchi, He et al. 2011). Les souris $Sst^{IRES-Cre}$ ont été croisées avec des souris $Rosa^{Isl-EYFP}$ (Ai3 Laboratoires Jackson #007903) afin d'activer l'expression du gène rapporteur *Enhanced yellow fluorescent protein* (EYFP) chez les SOM-INS (souris $Sst^{ires-cre};Rosa^{Isl-EYFP}$, définies souris Som-EYFP).

Les souris $Sst^{ires-cre};Rosa^{Isl-EYFP}$ ont été croisées avec des souris portant le gène *Rptor* floxé (souris $Rptor^{(fl/fl)}$ Laboratoires Jackson #013188) (Sengupta, Peterson et al. 2010) pour obtenir une délétion du gène *Rptor* sélective aux SOM-INS. Les progénitures hétérozygotes $Sst^{ires-Cre};Rosa26^{Isl-EYFP};Rptor^{(+/fl)}$ ont été encroisées pour obtenir une lignée de souris homozygote $Sst^{ires-Cre};Rosa26^{Isl-EYFP};Rptor^{(fl/fl)}$, définie comme souris Som-Raptor-Knock-Out (Som-Raptor-KO). Ces souris ont été comparée aux souris Som-EYFP avec génotype *Rptor* sauvage ($Sst^{ires-Cre};Rosa26^{Isl-EYFP};Rptor^{(+/+)}$).

Les souris $Sst^{ires-cre};Rosa^{Isl-EYFP}$ ont été croisées avec des souris portant le gène *Tsc1* floxé (souris $Tsc1^{(fl/fl)}$ Laboratoires Jackson #005680) pour l'obtention d'une délétion sélective aux cellules SOM. Les progénitures hétérozygotes $Sst^{ires-Cre};Rosa26^{Isl-EYFP};Tsc1^{(+/fl)}$ (définies Som-Tsc1-KO) ont été comparées aux souris Som-EYFP avec génotype *Tsc1* sauvage ($Sst^{ires-Cre};Rosa26^{Isl-EYFP};Tsc1^{(+/+)}$).

3.1.2. Préparation de tranche aigüe d'hippocampe

Des tranches aigües d'hippocampe ont été préparées à partir de souris mâles âgées de 6-10 semaines, tel que précédemment (Vasuta, Artinian et al. 2015). Brièvement, des coupes transverses (épaisseur de 300 μm pour les enregistrements de patch clamp, et 400 μm pour les enregistrements de potentiel de champs) ont été obtenues à l'aide d'un vibratome Leica VT1000S dans une solution froide ($<5^{\circ}\text{C}$) contenant (en mM) : 75 sucrose, 87 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH_2PO_4 , 7 MgSO_4 , 0.5 CaCl_2 , 25 NaHCO_3 , 25 glucose, 11.6 acide ascorbique et 3.1 acide pyruvique (pH 7.4, 300 mOsmol/L). Les régions CA1 et CA3 ont été isolées par une coupe chirurgicale. Les tranches ont ensuite été transférées dans une solution de liquide céphalorachidien artificiel (LCRa) contenant (en mM) 124 NaCl, 2.5 KCl, 1.25 NaH_2PO_4 , 1.3 MgSO_4 , 2.5 CaCl_2 , 26 NaHCO_3 et 10 glucose (pH 7.3-7.4, 295-305 mOsmol/L) à 32°C pendant 30 min, et maintenue ensuite à température ambiante ($20\text{-}22^{\circ}\text{C}$) pendant au moins 30 min. Les deux solutions étaient saturées en carbogène (95% O_2 /5% CO_2).

3.1.3. Protocole d'induction chimique de la PLT tardive

Pour le protocole d'induction chimique, les tranches ont été placées dans une solution de LCRa oxygéné à 32°C contenant l'agoniste des mGluR1/5, (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG, 5 μM ; Abcam, ON) et l'antagoniste des mGluR5, 2-méthyl-6 (phenylethynyl)-pyridine (MPEP, 25 μM ; Tocris Bioscience, UK) pour une période de 10 min. La stimulation a été répétée trois fois à 30 min d'intervalle. Pour le traitement contrôle, les tranches ont été placées dans une solution de LCRa pour les mêmes périodes. Après le traitement, les tranches ont récupéré dans le LCRa oxygéné à 30°C au moins 2 heures avant les enregistrements électrophysiologiques. L'expérimentateur était aveugle aux traitements et génotypes.



Figure 3.1 Protocole d'induction chimique de la PLT tardive

3.1.4. Enregistrement en mode cellule-entière

Les tranches ont été transférées dans une chambre à immersion perfusées avec du LCRa à 31 ± 0.5 °C (débit de 3-4 ml/min) pour une période de 30 minutes. Les interneurones somatostatinerghiques du CA1 exprimant la EYFP ont été identifiés à l'aide d'un microscope à épifluorescence (Nikon Eclipse, E600FN), équipé d'un objectif à immersion et longue distance (40x; et contraste d'interférence différentielle), et d'une caméra vidéo infrarouge. Les enregistrements ont été obtenus en configuration cellule entière et en mode voltage imposé avec des pipettes de verre (borosilicate; résistance 2-5 M Ω ; WPI) contenant une solution (en mM) de 120 CsMeSO₃, 5 CsCl, 2 MgCl₂, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 10 Na₂-phosphocréatine, 2 ATP-Tris, 0,4 GTP-Tris, 0.1 spermine, 2 QX314 et 0.1 biocytin (pH 7.2-7.3; 280 ± 5 mOsmol/L). Les signaux ont été enregistrés avec un amplificateur Multiclamp 700B (Molecular Devices) et un filtre passe-bas de 2 KHz, digitalisés à 20 KHz avec un digitaliseur Digidata 1440A (Molecular Devices) et le logiciel pClamp 10 (Molecular Devices). La résistance en série a été régulièrement vérifiée durant les enregistrements et seules les données de moins de 25% de variation ont été acceptées.

Les courants postsynaptiques excitateurs (CPSE) ont été enregistrés en présence de (2R)-amino-5-acide phosphonoalérique (AP5; 50 μ M) et de SR-95531 (gabazine, 5 μ M) pour bloquer les récepteurs NMDA et GABA_A respectivement. Les CPSEs ont été stimulés électriquement en utilisant une électrode bipolaire de verre de type thêta (Harvard Apparatus) remplie de LCRa et positionnée ~ 100 μ m latéralement de la cellule enregistrée. Un protocole de stimulation minimale a été utilisé pour induire des CPSEs originant de putatives fibres unitaires. L'intensité du courant de stimulation (durée 50 μ s) a été ajustée pour obtenir une réponse tout-ou-rien avec un taux de succès des CPSEs de 40-50%. La force (« *potency* ») des CPSEs a été mesurée en calculant l'amplitude moyenne des CPSEs (excluant les échecs).

Les propriétés membranaires des interneurones SOM ont été mesurées en configuration cellule entière et mode courant imposé avec une solution intra-pipette contenant (en mM) 120 KMeSO₄, 10 KCl, 10 HEPES, 0.5 EGTA, 10 Na₂-phosphocréatine, 2.5 MgATP, 0.3 NaGTP et 0.1% biocytin (pH 7.2-7.3; 280 ± 5 mOsmol/L). Le potentiel membranaire de repos a été mesuré immédiatement après l'ouverture de la membrane. La résistance membranaire (R_m) a été mesurée en utilisant une régression linéaire des déflexions de voltage (± 15 mV) en réponse aux sauts de

courant (sauts 5 pA, 500 ms, potentiel membranaire -60 mV), en excluant les réponses avec un changement de voltage durant l'hyperpolarisation (présence d'une conductance dépendante du voltage, « *sag* »). La constante de temps de la membrane a été calculée en moyennant 20 impulsions consécutives de courant hyperpolarisant (-5 pA, 500 ms), déterminée en ajustant la déflexion de voltage moyenne avec une simple fonction exponentielle pour calculer spécifiquement la capacitance membranaire spécifique à l'aide d'une simple dérivation (Hobbie, Russell K et al. 2015). Le seuil du déclenchement du potentiel d'action (PA) a été obtenu selon le voltage pour lequel la trajectoire de la pente a atteint 10 mV/ms. L'amplitude du PA a été mesurée à partir de la valeur de son seuil de déclenchement et de son pic. La durée du PA a été mesurée à la moitié de l'amplitude totale. L'amplitude d'après-hyperpolarisation rapide (AHP_r) a été calculée en prenant en compte la différence entre le seuil du PA et le pic négatif après le PA. La différence de temps entre la commande d'impulsion de courant et le déclenchement du PA a été déterminé comme la latence du PA. La rhéobase a été calculée en tant que courant minimal nécessaire à l'obtention d'au moins un PA. Les propriétés du potentiel d'action ont été mesurées sur le premier PA évoqué par impulsion de courant dépolarisant (500 ms) suffisant pour atteindre le seuil. L'index du sag a été déterminé grâce à une série d'impulsions de courant hyperpolarisant (de 500 ms et par saut de palier de 10 pA). À l'aide du graphique V-I reporté, la déflexion de voltage du pic négatif (V_{hyp}) et la déflexion de voltage à l'état d'équilibre (V_{sag} , en prenant compte du dernier 50 ms de la commande de courant) ont été mesurées pour calculer l'index à partir du ratio $(V_{repos} - V_{sag}) / (V_{repos} - V_{hyp})$, pour les injection de courant correspondant à $V_{sag} = -80$ mV (Tricoire, Pelkey et al. 2011).

3.1.5. Imagerie confocale et reconstruction cellulaire

Les neurones ont été marqués avec 0,1% de biocytin dissout dans la solution intracellulaire de la pipette d'enregistrement en mode cellule-entière. À la fin des enregistrements, les tranches hippocampiques ont été fixées toute la nuit à température ambiante dans une solution de paraformaldéhyde de 4% préparée avec 0.1 M de tampon phosphate et de 0.1% de Triton. La morphologie des neurones marqués a été révélée grâce à l'utilisation de la streptavidin conjuguée à la cy3 de dilution 1/1000 (Rockland Immunochemical, PA). Les tranches ont été incubées toute la nuit à température ambiante. La molécule fluorescente cy3 a été excitée à une longueur d'onde

de 543 nm et les images ont été prises utilisant un microscope confocal LSM 880 (Carl Zeiss, Germany). Les piles d'images (par 1 μm de profondeur) ont été acquises à travers un objectif à immersion d'eau 40x (Zeiss) pour l'obtention de reconstructions tri-dimensionnelles et pour une analyse Scholl des interneurons SOM avec le logiciel Fiji (ImageJ, NIH) et l'utilisation des extensions *Simple Neurite Tracer* et *Scholl analysis* de Fiji-Imagej. Les reconstructions neurales des interneurons SOM ont révélé que dans chaque groupe (souris Som-EYFP et Som-Rptor-KO), 9 cellules sur 10 ont affiché les caractéristiques du sous-type O-LM des interneurons SOM, le reste des cellules montrant une arborisation dense dans *strata oriens* et *radiatum*, typique des cellules bistratifiées (Tricoire, Pelkey et al. 2011). Étant donné que les cellules bistratifiées montrent une morphologie différente avec les cellules O-LM, les interneurons bistratifiés de chaque groupe ont été exclus de l'analyse morphologique.

3.1.6. Enregistrements de potentiel de champs et induction de la PLT tardive par tétanisation

Les potentiels post-synaptiques excitateurs d'enregistrements de potentiel de champs (PPSEc) ont été enregistré comme au préalable (Vasuta, Artinian et al. 2015) dans l'aire CA1 hippocampique au niveau du *stratum radiatum* à l'aide d'électrode en verre (de 1-3 $\text{M}\Omega$; WPI) remplie de LCRA. Les collatérales de Schaffer ont été stimulées (d'une durée de 0.1 ms; 30s^{-1}) en utilisant une électrode de stimulation bipolaire concentrique de tungstène (FHC) placée dans le *stratum radiatum* à proximité de la région CA3. Une deuxième électrode de stimulation similaire a été placée à la frontière *stratum oriens/alveus* à proximité du subiculum afin d'appliquer des trains de conditionnement en bouffées thêta. Les potentiels de champs ont été enregistré à l'aide d'un amplificateur extracellulaire différentiel (Microelectrode AC Amplifier Model 1800, A-M Systems), filtré à 2 KHz, digitalisé à 10 KHz (Digidata 1440A), et analysé avec pClamp10 (Molecular Devices). L'intensité de stimulation a été ajusté pour susciter un PPSEc de 35% de la magnitude maximale. La transmission synaptique de base a été évaluée en enregistrant les PPSEc en réponse à des paliers de stimulations progressifs (20 à 180 μA , saut de 20 μA par palier). La plasticité à court terme a été évaluée par les PPSEc en réponse à des impulsions paires de stimulations avec délais incrémentiels (20 à 110 ms, par palier de 30 ms). La PLT a été induite au

sein des synapses provenant des collatérales de Schaffer à travers l'électrode de stimulation placée dans le *stratum radiatum* par une faible stimulation à haute fréquence (fSHF; 750 ms, 100 Hz). Deux heures avant l'induction de la PLT dans la voie des collatérales de Schaffer, le protocole de conditionnement SBT pour induire la PLT tardive chez les interneurons SOM a été appliqué à la jonction des régions *stratum oriens/alveus*. La pente des PPSEc a été mesurée selon une amplitude comprise entre 10 et 90% de la magnitude totale.

La PLT tardive a été induite chez les interneurons SOM par stimulation électrique en tranches aiguës en utilisant une électrode bipolaire concentrique au tungstène (FHC) positionnée au niveau de la frontière *stratum oriens/alveus*. Le protocole d'induction de la PLT tardive consiste en une application de 4 trains de bouffées de stimulation thêta (BST) à 5 min d'intervalle. Chaque train de BST consiste en l'application de 3 épisodes (à 30 s d'intervalle) de 5 bouffées (à 250 ms d'intervalle entre chaque bouffée) de 4 impulsions à 100 Hz (Perez, Morin et al. 2001, Vasuta, Artinian et al. 2015). Les enregistrements en configuration cellule-entière ont été acquis sur les interneurons marqués positivement de la protéine fluorescente jaune (EYFP) et localisés à environ 100 µm de l'électrode de stimulation 2h après induction de la PLT tardive ou 2h après sur les tranches non téтанisées. La PLT a été évaluée d'après les CPSE évoqués par stimulation minimale avec une électrode en verre-thêta rempli de LCRa positionné sensiblement au même endroit que l'électrode de stimulation utilisé pour l'induction de la PLT.

3.1.7. Analyse statistique

Les analyses statistiques ont été effectuées en utilisant OriginPro 2016 (OriginLab). Les données ont été testées pour leur normalité et l'homoscédasticité grâce au test de Shapiro-Wilk et de Brown-Forsythe respectivement. Des *t* tests ont été utilisés (avec une correction Welch pour l'homoscédasticité), ou Anova à un facteur avec des comparaisons par paires de deux de Tukey; sinon les tests non-paramétriques Mann-Whitney et Kruskal-Wallis ont été utilisés. Tous les tests ont été bilatéraux. Sur les figures, les données ont été exprimées en tant que moyenne arithmétique accompagnée de l'erreur standard de la moyenne (moyenne ± ESM). Les astérisques caractérisent la significativité statistique calculée par les tests d'analyse spécifique (*, $p < 0.05$; **, $p < 0.01$,

***, $p < 0,001$, ns, non significatif). Les détails de quantification et de l'analyse des données sont décrits dans les sections correspondantes.

Chapitre 4

4.1 Résultats

4.1.1. PLT tardive mGluR1a-dépendante chez les interneurons SOM de souris matures.

Il est bien établi qu'il est possible d'induire une plasticité synaptique à long terme qui persiste dans le temps via l'activation des mGluR1a chez les SOM-INs du CA1 provenant de tranches d'hippocampe en culture. Ceci enclencherait une augmentation accrue de l'activité de mTORC1 provoquant le renforcement synaptique (Ran, Laplante et al. 2009) et la régulation traductionnelle dans la plasticité à long terme (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009, Gkogkas, Sonenberg et al. 2010). Nous avons déterminé si cette plasticité pouvait être induite chez l'animal mature. De ce fait, l'induction en tranches aigües de la plasticité synaptique persistante dépendante de mGluR1a et de mTORC1 a été investiguée en utilisant des souris transgéniques marquées pour exprimer la protéine fluorescente EYFP spécifiquement chez les SOM-INs dans une souche contrôle de phénotype sauvage (*Sst^{ires-Cre}, Rosa26^{Isl-EYFP}, Rptr^{+/+}*, nommée Som-EYFP).

Trois groupes sont distingués selon l'activation des mGluR1a, soit un groupe recevant un traitement sham (témoin négatif), un groupe recevant une seule application du traitement d'induction chimique et un groupe recevant une application répétée (3 fois) du traitement d'induction chimique. L'induction chimique a consisté d'une ou trois applications (de 10 min à 30 min d'intervalle) de l'agoniste mGluR1/5 (S)-3,5-dihydroxyphenylglycine (DHPG) en présence de l'antagoniste des mGluR5 2-méthyl-6-(phényléthynyl) pyridine (MPEP) (3 X DHPG/ MPEP) (Fig. 4.1a). La plasticité a été testée directement aux synapses excitatrices des SOM-INs en utilisant un protocole de stimulation minimale des collatérales récurrentes des cellules pyramidales du CA1 à l'aide d'une électrode de stimulation placée à la frontière O/A. Les réponses obtenues sous forme de CPSE évoqués par stimulation minimale (Fig. 4.1b) étaient potentialisées à 2h post-induction chez les Som-EYFP à la suite du protocole d'activation répétée des mGluR1a, tandis qu'aucune potentialisation n'a été induite par une seule application

du traitement ou en protocole de traitement sham (Fig. 4.1c). L'analyse statistique selon une Anova à un facteur montre une différence entre les groupes (Som-EYFP-Sham : n=14; Som-EYFP-1xDHPG : n=9; Som-EYFP-3xDHPG : n=16), $F(2,36) = 17,339$, $p = 5,324 \times 10^{-6}$. Afin de déterminer le groupe statistique significativement divergent, une analyse post hoc de Tukey a été utilisée, (Som-EYFP-Sham vs Som-EYFP-1xDHPG : $p = 0.748$; -Sham vs -3xDHPG : $p = 6.604 \times 10^{-5}$; et -1xDHPH vs -3xDHPG : $p = 4.122 \times 10^{-5}$). L'induction de la PLT chimique n'a été associée avec aucun changement du ratio d'impulsions pairées (Fig. 4.1c).

Ces résultats confirment la présence de la potentialisation à long terme tardive aux afférences excitatrices des SOM-INs en tranches par un protocole d'induction chimique d'activation répétée des mGluR1a chez les animaux matures.

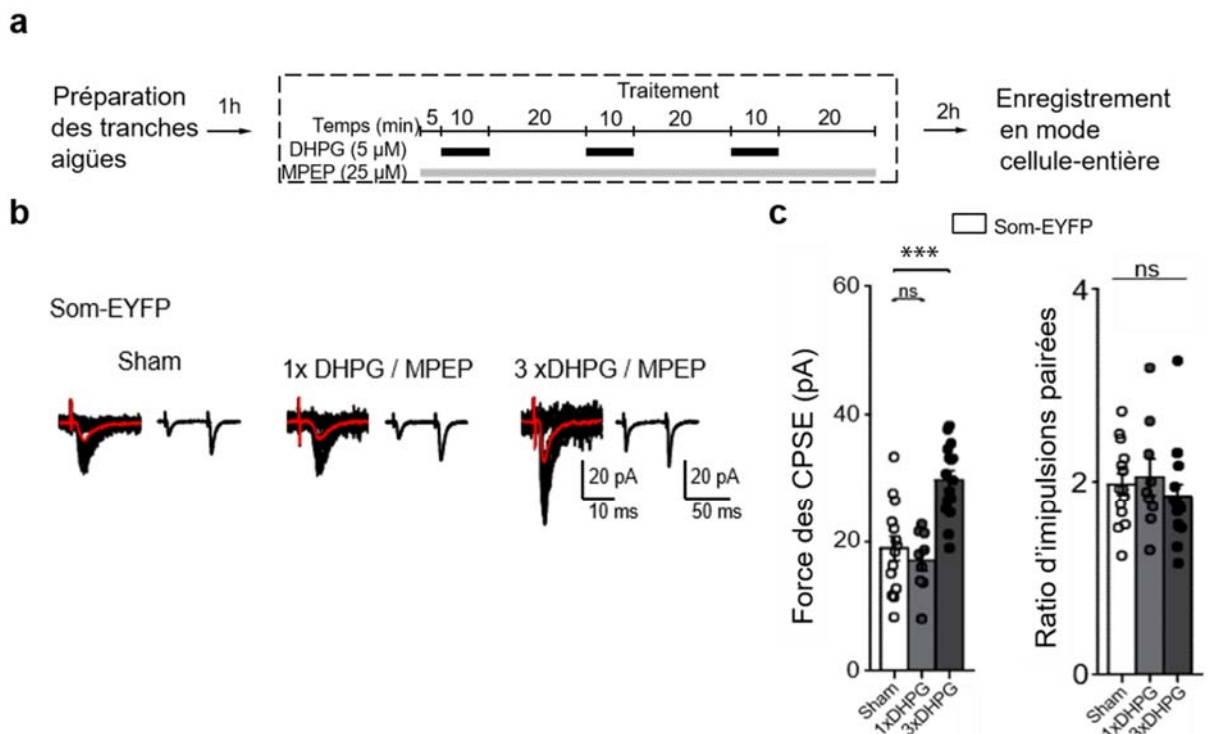


Figure 4.1 La stimulation répétée des mGluR1a induit une potentialisation à long terme tardive aux synapses excitatrices des SOM-INs du CA1.

a. Diagramme du protocole expérimental d'induction chimique de la PLT tardive en tranches aigües. **b.** Traces des CPSE représentatifs évoqués par stimulation minimale chez les SOM-INs. Les traces sont superposées par 20 événements consécutifs (CPSE + insuccès, en noir), le CPSE moyen (incluant les insuccès, en rouge) et la moyenne des CPSE pairés (20 événements) évoqués par stimulation d'impulsion pairées. **c.** Propriétés synaptiques des SOM-INs 2h après le traitement d'induction chimique de la PLT tardive dans les groupes sham, 1 X DHPG/MPEP ou 3 X DHPG/MPEP chez la souris transgénique sauvage (n=14, n=9 et n=16, respectivement).

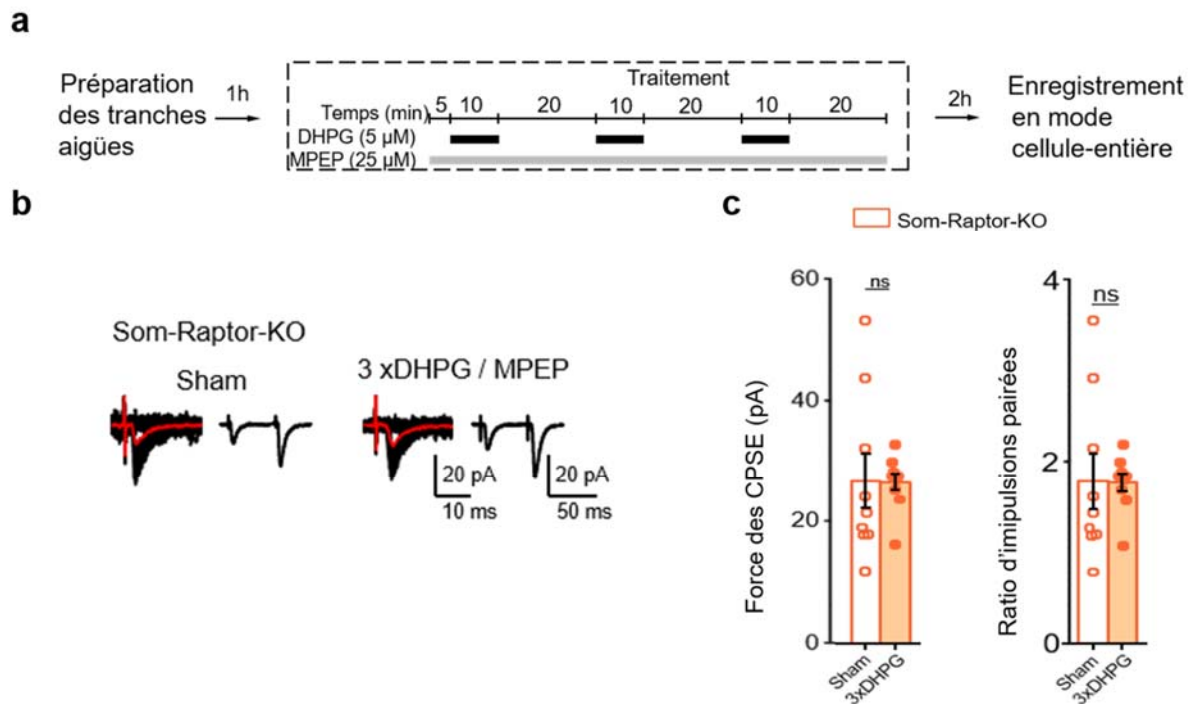
4.1.2. Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive : Inhibition de mTORC1 par le KO de *Raptor*.

L'induction d'une PLT tardive chez les SOM-INs soulève des questions sous-jacentes au phénomène observé. Quels sont les principaux facteurs jouant un rôle au sein de cette PLT tardive? Ces mêmes facteurs sont-ils les mêmes qu'en tranches organotypiques? De ce fait, l'induction en tranches aigües de la plasticité synaptique persistante dépendante de mGluR1a et de mTORC1 a été étudiée en utilisant des souris transgéniques non seulement modifiées pour exprimer la protéine fluorescente EYFP spécifiquement chez les SOM-INs dans une souche contrôle, mais aussi dans une souche comportant le gène *Raptor* muté (*Sst^{ires-Cre}, Rosa26^{Isl-EYFP}, Rptr^{fl/fl}*, nommée Som-raptor-KO) en tranches aigües comparativement à un groupe ayant subi un traitement sham.

En étudiant le mécanisme sous-jacent de l'induction de la PLT tardive chez les SOM-INs, le modèle de souris transgénique utilisé comportant la délétion du gène *Raptor* a servi à vérifier si les mêmes mécanismes qui sous-tendent la PLT persistante en tranches organotypiques d'hippocampe sont reflétés en tranches aigües. Ainsi, il a été vérifié si la PLT tardive induite chimiquement est mTORC1-dépendante en tranches aigües et les résultats montrent que la potentialisation des CPSE évoquée par stimulation répétée des mGluR1a est bloquée dans les Som-raptor-KO (Som-raptor-Sham : n=9; Som-raptor-KO : n=10) (Fig. 4.2b) tel que montré sur l'analyse statistique du test t avec correction Welch : $t(12.7)=0.5$, $p=0.65$. D'autre part, l'analyse comparative des impulsions paires ne montrent aucun changement entre les groupes selon un test de t avec correction Welch : $t(9.5)=0.05$, $p=0.96$.

Ces résultats indiquent que la PLT tardive induite chimiquement aux synapses des interneurons SOM est aussi dépendante de mTORC1 chez l'animal mature.

Suite à ces résultats montrant une absence de PLT tardive chez les souris SOM-Raptor-KO, des expériences complémentaires ont été effectuées pour déterminer si ces souris démontraient d'autres changements physiologiques et morphologiques.



Figures 4.2 La stimulation répétée des mGluR1a n'induit pas de potentialisation à long terme tardive aux synapses excitatrices des SOM-INS de souris SOM-raptor-KO.

a. Diagramme du protocole expérimental d'induction chimique de la PLT tardive en tranches aigües. **b.** Traces des CPSE représentatifs évoqués par stimulation minimale chez les SOM-INS. Les traces sont superposées par 20 évènements consécutifs (CPSE + insuccès, en noir), le CPSE moyen (incluant les insuccès, en rouge) et la moyenne des CPSE pairés (20 évènements) évoqués par stimulation d'impulsion pairées (à droite). **c.** Propriétés synaptiques des SOM-INS 2h après le traitement d'induction chimique de la PLT tardive dans les groupes comparés: sham et 3 X DHPG/MPEP chez la souris transgénique SOM-raptor-KO (n=9 et n=10, respectivement).

4.1.3. Propriétés membranaires des interneurones chez la souris SOM-raptor-KO.

Les propriétés membranaires passives et actives des SOM-INS ont été caractérisées lors d'enregistrements en configuration cellule entière et mode courant imposé sur tranches obtenues de souris Som-raptor-KO et contrôles. Trois catégories de paramètres ont été évaluées, soit les propriétés membranaires passives (échelle infraliminaire), les propriétés d'un potentiel d'action

individuel, et enfin les propriétés lors de la décharge d'un train de potentiels d'action (échelle supraliminaire).

4.1.3.1. Propriétés intrinsèques infraliminaires

Les propriétés membranaires passives examinées comportent 4 paramètres, soit le potentiel de repos, la résistance membranaire, la capacitance membranaire spécifique et l'index du sag. Aucune des propriétés membranaires passives n'était différente entre les souris Som-EYFP et Som-raptor-KO (Figure 4.3) tel que montré statistiquement pour le potentiel de repos (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=19 cellules/ 10 souris; test Mann-Whitney, $p=0.06$); pour la résistance membranaire (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0.51$); la capacitance membranaire spécifique (Som-EYFP : n=17 cellules/ 10 souris; Som-raptor-KO : n=20 cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0.49$) et l'index du sag (Som-EYFP : n=14 cellules/ 9 souris; Som-raptor-KO : n=14 cellules/ 8 souris; $t(26)=0.3$, $p=0.8$). Les propriétés membranaires passives n'ont montré aucune anomalie et sont donc intactes chez les interneurons des souris Som-raptor-KO.

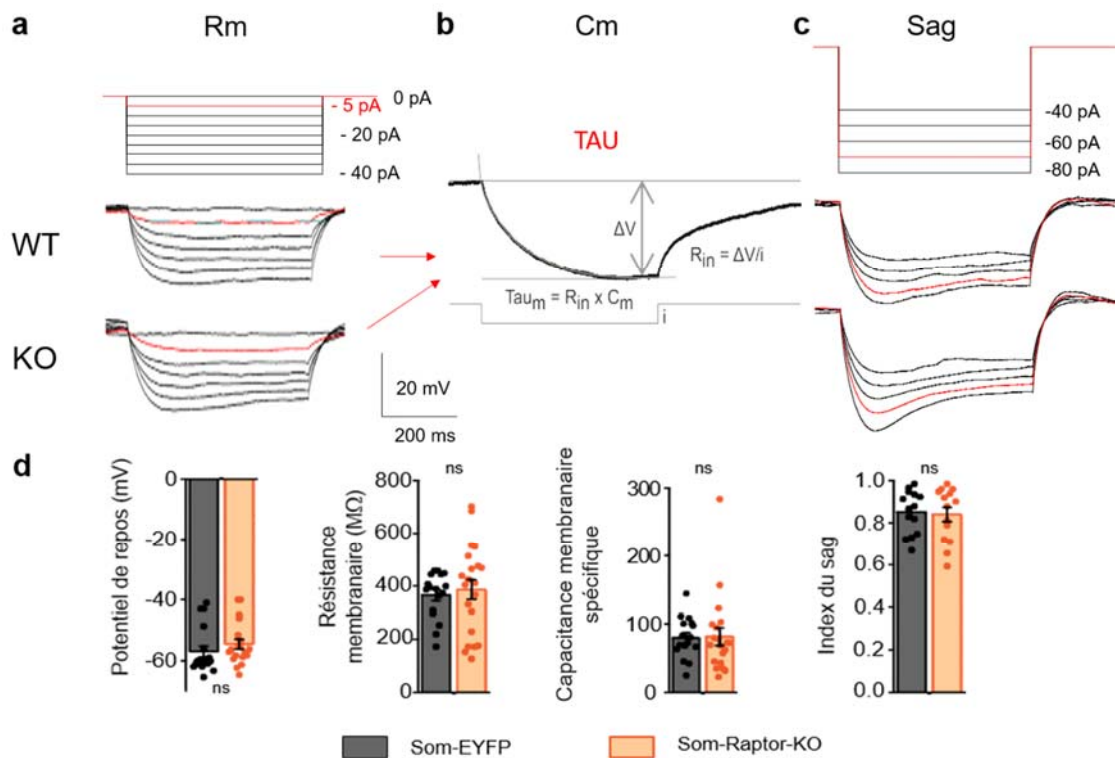


Figure 4.3 Propriétés membranaires passives des interneurons SOM chez les souris SOM-raptor-KO.

a. Diagramme d'injection de courant en mode courant-imposé pour la mesure de la résistance membranaire (R_m); injection de courant hyperpolarisant de 0 à -40 pA par bond de 5 pA. Traces représentatives de déflexion de voltage pour les génotypes de souche sauvage (WT) et KO pour le gène *Rptor*. **b.** Hyperpolarisation (injection de 5 pA) pour le calcul de la capacitance membranaire (C_m) obtenu d'une équation exponentielle au second degré. **c.** Diagramme d'injection de courant en mode courant-imposé pour la mesure du sag de l'hyperpolarisation membranaire pour des valeurs de courant de -40 à -80 pA. Traces représentatives de déflexion de voltage pour les génotypes comparés. **d.** Paramètres analysés des mesures de propriétés passives.

4.1.3.2. Propriétés intrinsèques à l'échelle liminaire

Les propriétés membranaires étudiées à l'échelle d'un PA incluent la latence, la rhéobase, le potentiel-seuil, l'amplitude du PA, la durée du PA à mi-amplitude et l'amplitude maximale de l'après-hyperpolarisation.

Les données recueillies présentent certaines différences (Fig. 4.4). Les paramètres inchangés sont la latence du premier PA évoqué (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0,14$), la rhéobase (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris : Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0.61$), et l'amplitude du PA (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; $t(37)=0.2$, $p=0.81$).

Les paramètres qui ont montré des changements sont le seuil de déclenchement d'un PA (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; test de t avec correction welch, $t(24.7)=3.1$, $p=0.005$), la durée du PA à mi-amplitude (Som-EYFP : n=t(37)=2.2, $p=0.031$), et l'amplitude de l'après-hyperpolarisation (Som-EYFP : n=18 cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : n=21 cellules/ 10 souris; $t(37)=2.7$, $p=0,011$). Ainsi, les différences observées sont une diminution du seuil de déclenchement du PA, une diminution de la durée du PA à mi-amplitude, et une diminution de l'amplitude de l'après-hyperpolarisation.

Ces résultats montrent que les potentiels d'action des interneurons de souris Som-raptor-KO ont une diminution du seuil d'activation, un décours temporel plus rapide, et une repolarisation augmentée. Toutefois il est à noter que ces différences semblent mineures puisque la latence, rhéobase et amplitude du potentiel d'action sont inchangées.

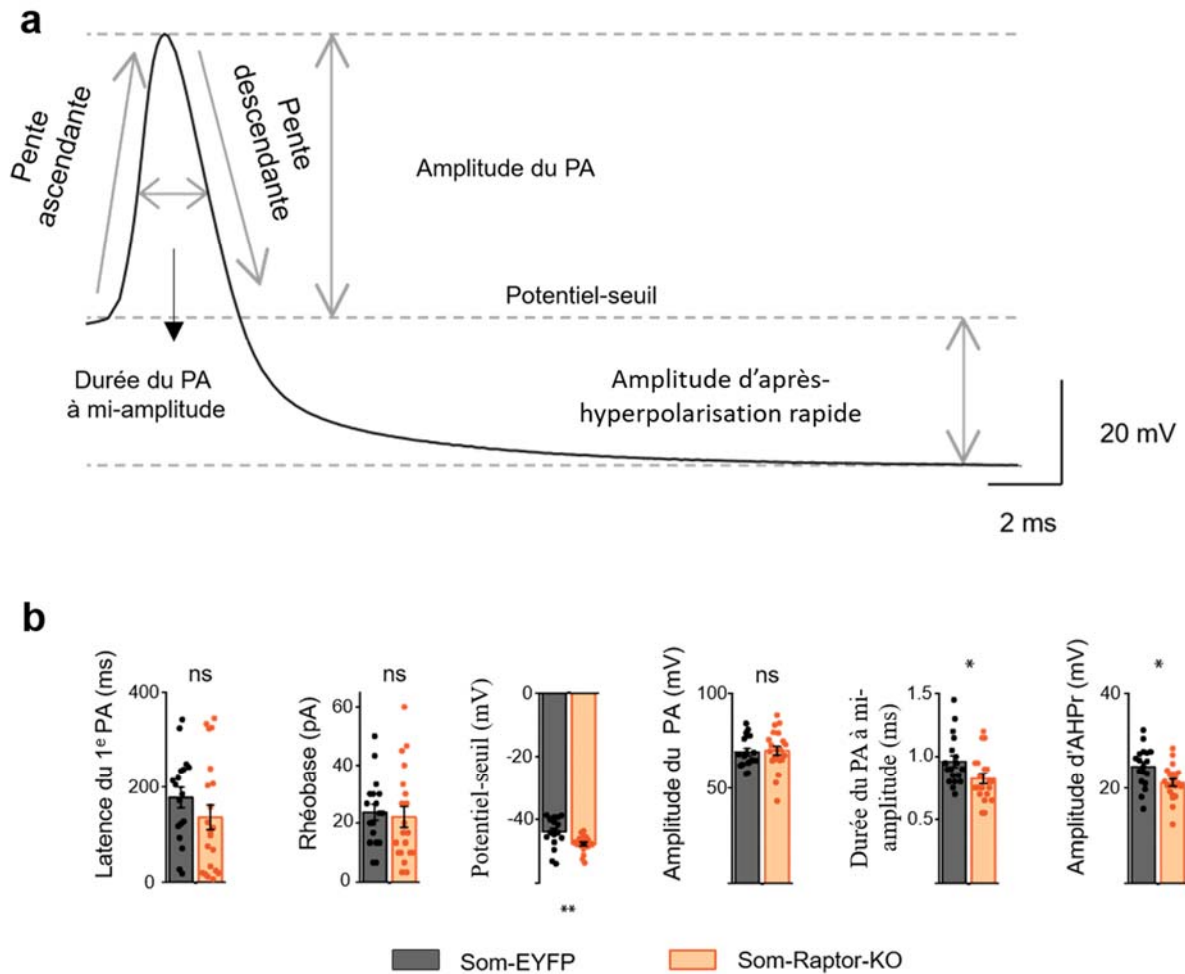


Figure 4.4 Paramètres de propriétés membranaires liminaires des interneurones SOM.

a. Schéma d'un potentiel d'action montrant les principaux paramètres mesurés. Tiré et modifié de (Dufour, Woodhouse et al. 2014). **b.** Comparaison des paramètres analysés chez la souris contrôle et SOM-raptor-KO. PA : potentiel d'action; AHPr : après-hyperpolarisation rapide; pA : picoampères; mV : milliVolt; ms : milliseconde.

4.1.3.3. Propriétés intrinsèques supraliminaires

Les paramètres suivants ont été mesurés lors des décharges de potentiels d'action pendant l'application de courant dépolarisant (0 à 200 pA par saut de 10 pA) : le ratio d'adaptation de la fréquence de décharge à rhéobase x4, la fréquence de décharge à rhéobase x2, et le gain (la pente) de la fréquence de décharge obtenu de la fonction F-I (fréquence de décharge en fonction du courant de stimulation) (Fig. 4.5).

Les résultats de l'analyse statistique ont montré une différence dans deux des trois paramètres mesurés: la fréquence de décharge à rhéobase $\times 2$ (Som-EYFP : $n=18$ cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : $n=21$ cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0.0015$); et le gain de fréquence de décharge de la fonction F-I (Som-EYFP : $n=18$ cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : $n=21$ cellules/ 10 souris; Mann-Whitney, $p=0.00103$). Le ratio d'adaptation de la fréquence de décharge était inchangé (Som-EYFP : $n=18$ cellules/ 11 souris; Som-raptor-KO : $n=21$ cellules/ 10 souris; $t(35)=2$, $p=0.055$).

Les résultats obtenus montrent que les propriétés membranaires supraliminaires des interneurons SOM diffèrent chez la souris Som-raptor-KO et que celles-ci démontrent un taux de décharge plus élevé lors de décharges soutenues.

En résumé, la caractérisation physiologique des propriétés membranaires des interneurons SOM montre que les propriétés de base d'excitabilité membranaire sont en général intactes, mais que certaines propriétés de décharge répétitives sont augmentées. Cette augmentation de taux de décharge doit donc être tenu en compte lors de l'interprétation de résultats avec cette lignée de souris.

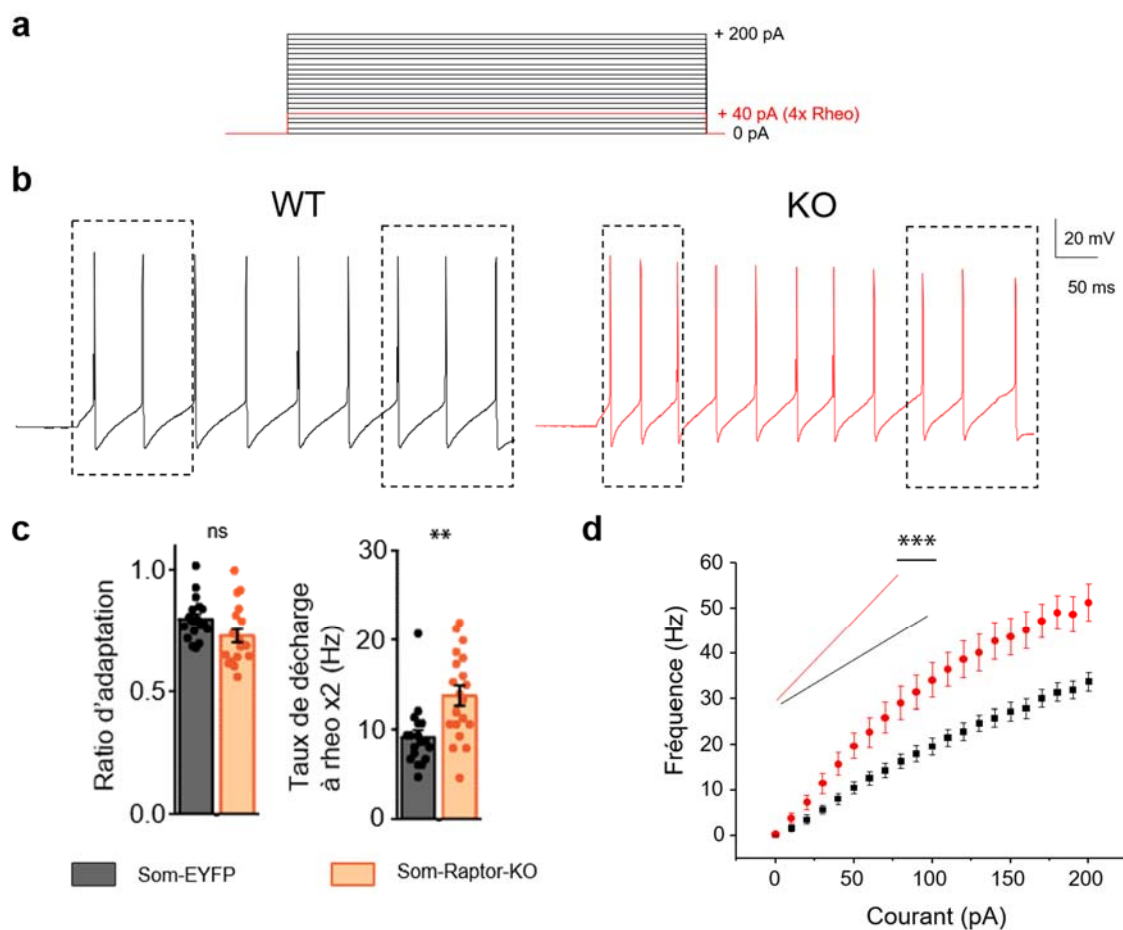


Figure 4.5 Propriétés de décharge des interneurons SOM lors de train de potentiels d'action.

a. Diagramme d'injection de courant dépolarisant de 0 à 200 pA. **b.** Traces représentatives d'un train de potentiels d'action des génotypes SOM-EYFP et SOM-raptor-KO respectivement. Les encadrés représentent les intervalles choisis pour le calcul du ratio d'adaptation de la fréquence de décharge. **c.** Histogrammes des paramètres de décharge analysés. **d.** Graphique de la fonction F-I (fréquence en fonction du courant injecté) pour les injections de courant illustrées en **a**. Comparaisons de la pente initiale (gain) de la fonction F-I, reportée au-dessus des points.

4.1.4. Propriétés morphologiques des interneurons chez la souris SOM-raptor-KO.

Sachant que mTORC1 est un complexe protéique important dans la croissance cellulaire (Saxton and Sabatini 2017), les propriétés morphologiques des interneurons SOM ont été examinées chez la souris Som-raptor-KO afin de s'assurer d'une croissance normale des

neurones touchés par la mutation. Il est important de mentionner que le nombre d'interneurones SOM exprimant la protéine EYFP ne diffèrent pas dans les deux groupes, soit les souris Som-EYFP et Som-raptor-KO tel que démontré par des travaux complémentaires au sein du laboratoire (Artinian, La Fontaine et al. 2015).

La morphologie des interneurones SOM a été examinée en utilisant le marquage intracellulaire par la biocytine lors des enregistrements électrophysiologiques en configuration cellule entière de la section précédente. La révélation du marquage à la biocytine par la streptavidine couplée au fluorophore cy3 sur tranches transverses d'hippocampe a permis la mesure de divers paramètres tel que l'aire somatique, le nombre de branches primaires, le nombre de points d'embranchement, la distance dendritique totale, ainsi que le nombre d'intersections en fonction de la distance par rapport au soma grâce à l'analyse Scholl (Figure 4.6).

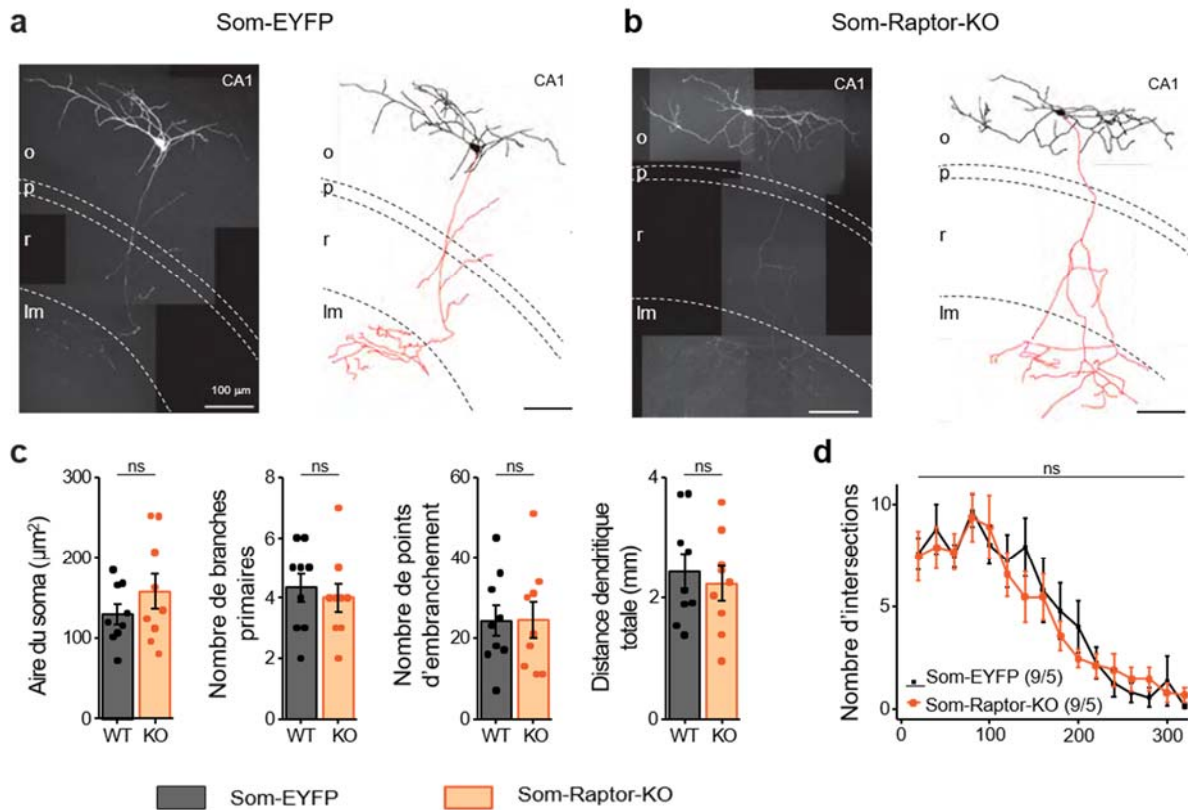
En accord avec la littérature, le marquage des interneurones SOM lors de nos enregistrements a identifié deux types morphologiques, soit les cellules bistratifiées et O-LM (Muller and Remy 2014, Mikulovic, Restrepo et al. 2015). La grande majorité des interneurones marqués étaient des cellules O-LM (9/10 cellules dans chaque groupe). Les cellules bistratifiées ont donc été retirées, et les analyses morphologiques ont été limitées aux cellules O-LM.

Les données recueillies à partir des mesures morphométriques ne montrent aucune différence entre les SOM-INS des souris Som-EYFP et Som-raptor-KO (Som-EYFP : n=9 cellules/ 5 souris; comparativement à Som-raptor-KO : n=9 cellules/ 5 souris; d'après un test de t): aire du soma ($t(16)=1.1$, $p=0.27$); nombre de branches primaires ($t(16)=0.3$, $p=0.74$); nombre de points d'embranchement ($t(16)=0.3$, $p=0.75$); et longueur dendritique totale ($t(16)=0.5$, $p=0.60$).

Pour l'analyse Scholl de la reconstruction de l'arborisation dendritique des SOM-INS (binés aux 20 μm) chez les Som-EYFP et les Som-raptor-KO, la comparaison par une ANOVA à mesures répétées à deux facteurs montre aucune différence significative : $F(9.144_{\text{interaction}})=0.6$, $p=0.82$.

Les résultats obtenus montrent donc aucun changement au niveau de la croissance cellulaire et du développement dendritique chez les interneurons SOM indiquant que la réduction de l'activité de mTORC1 n'intervient que suite au développement des interneurons.

En conclusion, la caractérisation des propriétés membranaires et morphologiques des interneurons SOM montre aucun changement majeur entre les souris Som-EYFP et Som-raptor-KO, sauf toutefois une augmentation du taux de décharge en condition de dépolarisation soutenue.



Figures 4.6 Propriétés morphologiques des interneurons SOM.

a,b. Montage représentatif d'images confocales en projection sur axe z (100 images, section optique d'un micron) d'interneurones SOM marqués à la biocytine (gauche), et reconstructions (soma et dendrites en noir, axone en rouge; droite) de souris SOM-EYFP et de SOM-raptor-KO. Tel qu'illustré, la vaste majorité des cellules SOM-EYFP enregistrées en mode cellule-entière et marquées à la biocytine dans la présente étude correspondent au sous-type d'interneurones O-LM. Les lignes pointillées représentent les couches du CA1, soit oriens (o), pyramidale (p), radiatum (r) et lacunosum-moleculare (lm). Échelle : 100 μ m. **c.** Paramètres morphométriques somatiques et dendritiques des SOM-INS de souris SOM-EYFP (WT) et SOM-raptor-KO (KO). **d.** Analyse Scholl de

l'arborisation dendritique des SOM-INs reconstruits (binés aux 20 μ m) dans les souris SOM-EYFP (n=9; 5 souris) et SOM-raptor-KO (n=9; 5 souris).

4.1.5. Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive : Facilitation de mTORC1 par le KO de *Tsc1*.

Ayant établi que la LTP tardive des afférences excitatrices des SOM-INs dépend de l'activité de mTORC1, il est intéressant de vérifier si l'activité de mTORC1 est non seulement nécessaire, mais suffisant pour déclencher une PLT des afférences excitatrices des SOM-INs. Pour ce faire, un autre type de souris transgénique a été utilisée, cette fois afin d'augmenter l'activité de mTORC1, soit une souris comportant une délétion du gène *Tsc1*, important répresseur en amont de mTORC1 (Saxton and Sabatini 2017).

L'expérience se base sur des travaux similaires déjà effectués afin d'élucider les mécanismes soulignant la PLT tardive dépendante de mTORC1 utilisant une souris transgénique KO pour un répresseur en aval de la voie de signalisation de mTORC1, soit 4E-BP1/2, et montrant une facilitation de la LTP tardive des interneurons SOM (Banko, Poulin et al. 2005, Ran, Laplante et al. 2009). L'induction chimique de la PLT tardive a été examinées lors d'enregistrements de CPSE évoqués par stimulation minimale chez les interneurons SOM de souris Som-TSC1-KO, à la suite du traitement Sham, à l'activation unique des mGluR1a, ou à l'activation répétée (3 fois) des mGluR1a.

Les résultats statistiques montrent qu'il existe une différence significative entre les 3 groupes comparés par une Anova à un facteur, soit pour le groupe sham (n=14), 1xDHPG/MPEP (n=12) et 3xDHPG/MPEP (n=12), $F(2,35)=8.958$, $p=7.216 \times 10^{-4}$. Un test post hoc de Tukey pour des comparaisons par paires a indiqué une différence significative entre *Tsc1*-Sham vs *Tsc1*-1xDHPG : $p=0.00427$; et *Tsc1*-1xDHPG vs *Tsc1*-3xDHPG : $p=0.0012$; mais non entre *Tsc1*-Sham vs *Tsc1*-3xDHPG : $p=0.818$. Ces résultats montrent donc une facilitation de l'induction chimique de la PLT tardive chez les SOM-INs de souris Som-*Tsc1*-KO puisqu'une seule période de stimulation est suffisante pour induire la LTP. Chez la souris contrôle (Figure 4.1), trois épisodes de stimulation chimique sont nécessaires pour induire la PLT.

Ces résultats montrent non seulement que l'activité de mTORC1 est nécessaire à l'induction de la PLT chimique, mais aussi que son activité accrue est suffisante pour faciliter l'induction de la PLT tardive.

Il est également important de noter que l'application répétée du protocole d'activation mGluR1a n'a pas induit de PLT chez la souris Som-Tsc1-KO, suggérant que l'augmentation de l'activité de mTORC1 bloque l'induction normale de la PLT.

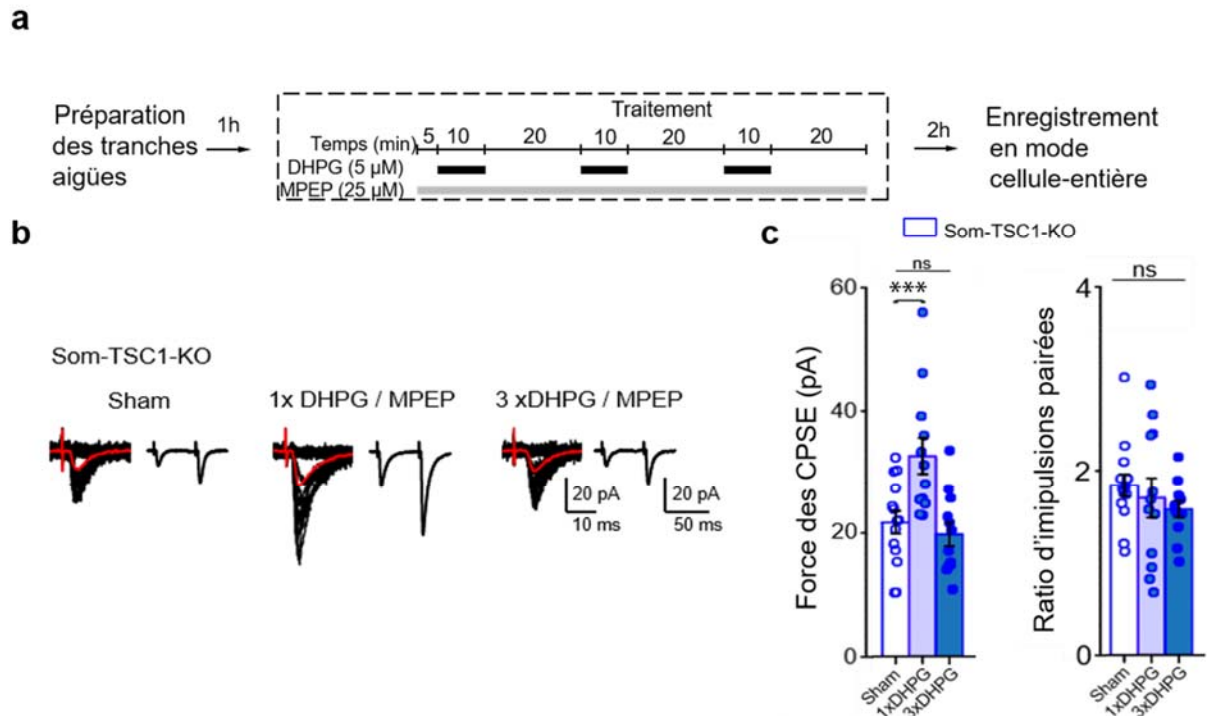


Figure 4.7 Facilitation de l'induction de la potentialisation à long terme tardive des SOM-INs chez la souris SOM-Tsc1-KO.

a. Diagramme du protocole expérimental d'induction chimique de la PLT tardive en tranches aigües. **b.** Traces des CPSE représentatifs évoqués par stimulation minimale chez les SOM-INs. Les tracés sont superposés par 20 évènements consécutifs (CPSE + insuccès, en noir), le CPSE moyen (incluant les insuccès, en rouge) et la moyenne des CPSE paires (20 évènements) évoqués par stimulations paires (à droite). **c.** Propriétés synaptiques des SOM-INs 2h après le traitement d'induction chimique dans les groupes sham, 1 X DHPG/MPEP ou 3 X DHPG/MPEP chez la souris SOM-Tsc1-KO (n=14, n=12 et n=12, respectivement).

4.1.6. Régulation de la PLT du réseau CA1 par la PLT tardive des afférences excitatrices des interneurons SOM.

Pour la dernière partie des expériences effectuées dans la présente étude, le rôle fonctionnel de la PLT tardive des SOM-INS a été investigué à l'échelle du réseau hippocampique du CA1. Plus spécifiquement dans la régulation de la PLT des collatérales de Schaffer par la PLT tardive des SOM-INS, on parle alors de métaplasticité tel que rapporté dans des travaux antérieurs pendant la phase précoce de la PLT des SOM-INS et la régulation de la potentialisation des CS (Vasuta, Artinian et al. 2015).

Des travaux complémentaires effectuées au laboratoire du Dr Lacaille ont démontré que la PLT tardive chez les SOM-INS a été induite électriquement en appliquant un protocole d'induction répété (12x) de stimulation en bouffées thêta (SBT) au niveau de l'alveus pour stimuler les efférences excitatrices récurrentes provenant des cellules pyramidales du CA1 vers les SOM-INS. Ainsi, la stimulation répétée par SBT sur l'*alveus* en tranches de souris Som-EYFP induit une augmentation au niveau de l'amplitude et de la force des CPSE, ce qui n'est pas le cas en tranches de souris Som-raptor-KO (Artinian, Honore et al. 2018).

Pour commencer, des expériences contrôles ont été effectuées pour assurer l'intégrité de la transmission synaptique des collatérales de Schaffer en enregistrement de potentiel de champs chez les souris Som-raptor-KO. La transmission synaptique de base et la plasticité synaptique à court terme ont été caractérisées aux synapses des CS (Fig. 4.8b-d).

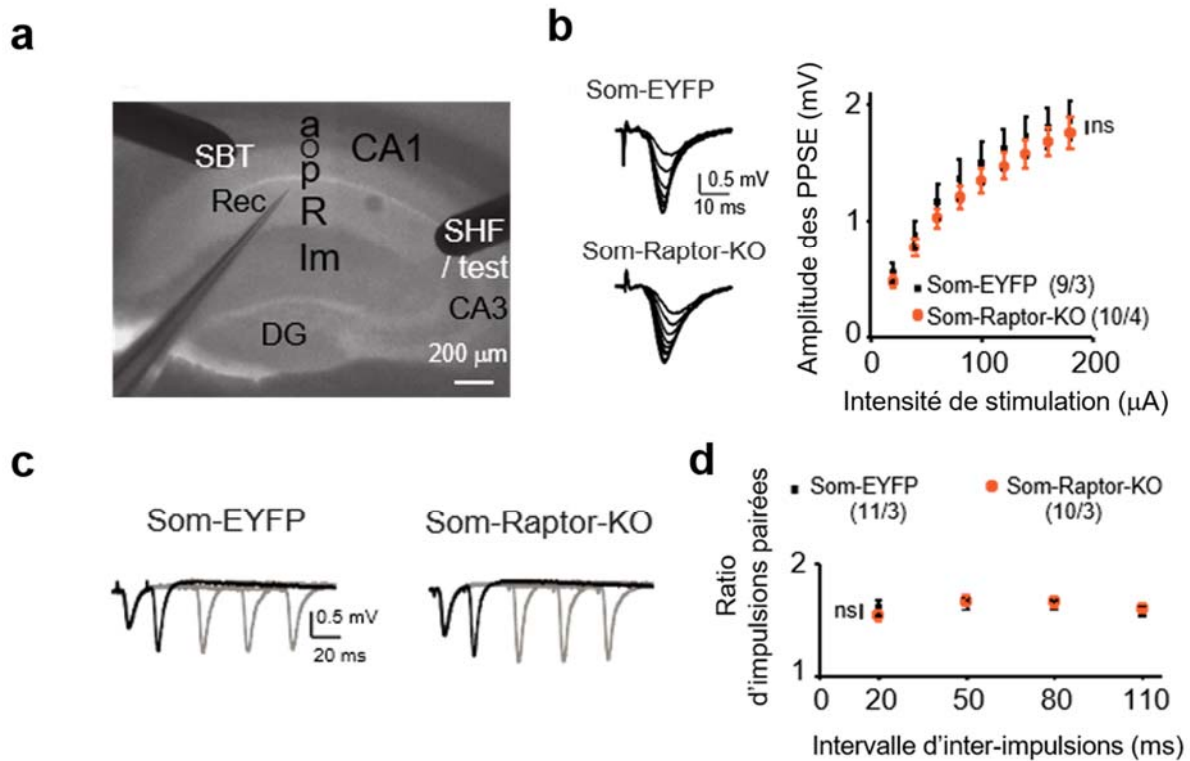


Figure 4.8 Caractérisation des réponses électrophysiologiques des collatérales de Schaffer de tranches hippocampiques de souris matures SOM-raptor-KO.

a. Configuration d'enregistrement. SBT : stimulation en bouffée thêta, Rec : enregistrement, SHF : stimulation à haute fréquence, test : activation des réponses synaptiques des CS. **b.** Traces représentatives et graphe de l'amplitude des PPSE en réponse à une stimulation incrémentielle des collatérales de Schaffer (CS) sur des tranches de souris SOM-EYFP (n=9) et SOM-raptor-KO (n=10). **c.** Traces représentatives résultant de stimulation d'impulsions paires. **d.** Ratio des amplitudes des PPSE (PPSE2/PPSE1) en réponse à des stimulation d'impulsions paires aux CS.

Tel qu'observé sur la Figure 4.8, aucun changement au niveau de la transmission synaptique ou de la plasticité à court terme n'a été observé pour ces expériences. Ainsi, l'analyse statistique des réponses de PPSE obtenues avec une stimulation incrémentielle des CS dans les Som-EYFP (n=9; 3 souris) et Som-raptor-KO (n=10; 4 souris) donne les résultats suivants pour l'amplitude mesurée selon une Anova à deux facteurs à mesures répétées : $F(8,135_{interaction})=0.2$, $p=0.7$ (Fig. 4.8b). En comparant l'amplitude des PPSE obtenues lors de stimulation des CS par impulsions paires, on obtient aucune différence significative pour les souches Som-EYFP (n=11; 3 souris) et Som-raptor-KO (n=10; 3 souris) tel que montré statistiquement par une

Anova à deux facteur, $F(3,76)=0.39$, $p=0.76$ (Fig. 4.8c-d). Après avoir montré que la transmission synaptique de base et que la plasticité synaptique à court terme ne montre aucune différence entre les groupes, il a été maintenant possible d'étudier le rôle de la PLT tardive des SOM-INS au sein du réseau CA1.

Ce qui est intéressant est que l'aire CA1 est la région de l'hippocampe qui effectue la sortie de l'information synaptique vers les autres organes de la formation hippocampique et la PLT des synapses provenant des cellules pyramidales de la région CA3 vers celles du CA1 est considérée comme un phénomène crucial induit par l'apprentissage et du fait même supportant la mémoire (Whitlock, Heynen et al. 2006, Penn, Zhang et al. 2017, Choi, Sim et al. 2018). Un sous-type majeur des SOM-INS, les cellules O-LM (Freund and Buzsaki 1996, Pelkey, Chittajallu et al. 2017), sont des interneurons dont les axones se projettent sur les dendrites distales des cellules pyramidales et qui procurent une régulation différentielle des CS et de la voie temporo-ammonique (Figure 4.9a) (Leao, Mikulovic et al. 2012). Ces interneurons régulent donc à la baisse la PLT de la voie temporo-ammonique tandis qu'en inhibant d'autres interneurons se trouvant dans le *stratum radiatum*, ils régulent à la hausse la PLT des afférences des CS (PLT-CS) par désinhibition (Leao, Mikulovic et al. 2012, Vasuta, Artinian et al. 2015, Hurtado-Zavala, Ramachandran et al. 2017, Artinian and Lacaille 2018). Par conséquent, l'investigation s'est poursuivie afin de confirmer ou réfuter si la plasticité dépendante de mTORC1 aux afférences excitatrices des SOM-INS a un contrôle efférent prolongé et persistant sur la régulation de la PLT-CS.

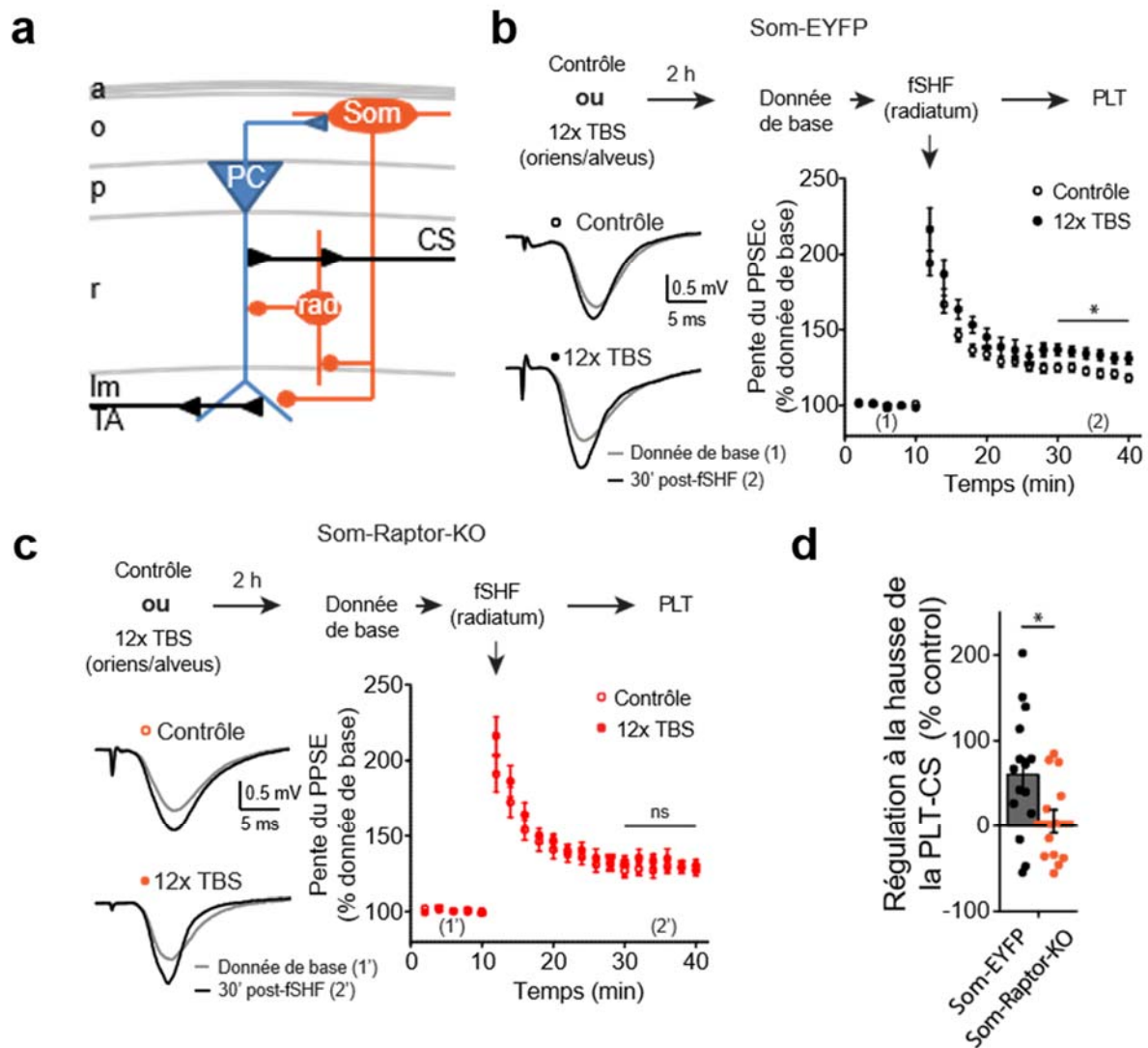


Figure 4.9 La PLT tardive mTORC1-dépendante dans les SOM-INs régulent la PLT des Collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1.

a. Diagramme simplifié du réseau CA1 sous-jacent. CS : collatérales de Schaffer, TA : voie temporo-ammonique, PC : cellules pyramidales, Som : SOM-INs, rad : interneurone du radiatum. **b.** (Haut) : Description de la stimulation et du protocole d'induction. (À gauche) : Traces représentatives des PPSEc en réponse à une stimulation des CS 10 min avant (1) et 30 min post- application d'une faible SHF (fSHF, 100 Hz, 750 ms) (2) pour induire une PLT-CS en condition contrôle et 2h post-induction de la PLT tardive chez les SOM-INs (SBT répétées) dans des souris SOM-EYFP. (À droite) : Graphique de la pente des PPSE, en enregistrement de potentiel de champ, induite par une fSHF. **c.** Même description qu'en **b.** dans les souris SOM-raptor-KO. **d.** Régulation à la hausse de la PLT-

CS, 2h après application du protocole d'induction de la PLT tardive chez les SOM-INs, normalisé selon la PLT-CS moyenne du contrôle.

Pour investiguer le rôle de la PLT tardive des SOM-INs dans le réseau CA1, j'ai appliqué le protocole d'induction à l'alveus et 2h plus tard, j'ai appliqué une faible stimulation à haute fréquence (faible SHF; 100 Hz, 750 ms) dans le *stratum radiatum* afin d'induire une PLT-CS dans les cellules pyramidales. La magnitude de la réponse de la PLT-CS a été augmentée dans les tranches Som-EYFP ayant reçu préalablement le protocole d'induction de la PLT tardive des SOM-INs en comparaison avec les tranches n'ayant subi aucune induction préalable (Fig 4.9b).

Les données statistiques montrent un PLT des CS plus grande après 12x SBT pour le groupe Som-EYFP (sham : n=13; SBT : n=15; test Mann-Whitney, $p=0.03$). Cette différence est cependant absente dans le groupe Som-raptor-KO (Fig. 4.9c) tel que démontré statistiquement (sham : n=9; SBT : n=13; test Mann-Whitney : $p=0.89$). En comparant le pourcentage de régulation à la hausse normalisé par rapport à la moyenne de la PLT-CS des contrôles (sham), une régulation à la hausse des CS est présente chez le groupe Som-EYFP seulement, montrant que cette métaplasticité est dépendante de l'activité de mTORC1 (Fig. 4.9d) : $t(26)=2.3$, $p=0.029$. Ces résultats montrent que des épisodes répétés de stimulation en bouffée thêta induit une plasticité aux afférences des SOM-INs qui perdure des heures et qui semble réguler à long terme leur activité inhibitrice et par le fait même la métaplasticité du réseau CA1.

Chapitre 5

5.1. Discussion

5.1.1. Rappel des principaux résultats

Les objectifs de ce mémoire étaient :

Objectif général : Étudier la synapse aux afférences excitatrices des SOM-INs provenant du rétrocontrôle des collatérales des cellules pyramidales de l'aire CA1 en utilisant une approche génétique de mutation spécifique d'un type cellulaire pour générer des modèles de souris transgéniques. Ces modèles serviront entre autres à révéler de nouvelles informations du fonctionnement de mTORC1 dans la plasticité à long terme qui se produit à ces synapses.

- 1) Vérifier si la PLT dépendante des mGluR1a des SOM-INs est présente en tranches aigües chez la souris mature.
- 2) Vérifier si la PLT est dépendante de l'activité de mTORC1 en tranches chez la souris mature.
 - 2a) Vérifier si les propriétés membranaires passives et actives des SOM-INs sont affectées ou non par la mutation du gène *Raptor*.
 - 2b) Vérifier si les propriétés morphologiques des SOM-INs sont affectées par la mutation du gène *Raptor*.
- 3) Vérifier si la modulation à la hausse de l'activité de mTORC1 a un effet sur la PLT tardive chez la souris Som-Tsc1-KO.
- 4) Investiguer le rôle de la PLT tardive des SOM-INs dans la régulation du réseau hippocampique.

Les expériences effectuées en vertu des objectifs visés montrent les résultats suivants :

- 1) Une stimulation chimique répétée des mGluR1a en tranches aigües de souris mature potentialise de façon persistante les synapses excitatrices des interneurons exprimant la somatostatine.

- 2) Le protocole de stimulation répétée des mGluR1a n'induit aucune potentialisation à long terme persistante dans les interneurons SOM avec délétion du gène *Raptor*.
 - a) La caractérisation des propriétés membranaires des SOM-INS dans les souris Som-raptor-KO montrent que les propriétés passives ne sont pas affectées par la mutation. Cependant des changements sont observés au niveau de certains paramètres à l'échelle liminaire et supraliminaire : le seuil de déclenchement d'un potentiel d'action, la durée du potentiel d'action à mi-amplitude, et l'amplitude de l'après-hyperpolarisation rapide. À l'échelle d'un train de potentiels d'action, les paramètres montrant une différence significative sont la fréquence de décharge à rhéobase x2, et pour le gain (pente) de la relation de la fréquence de décharge en fonction de l'intensité de stimulation.
 - b) La caractérisation morphologique des interneurons SOM ne montre aucun changement des interneurons chez la souris Som-raptor-KO par rapport aux cellules de la souris Som-EYFP.
- 3) La modulation à la hausse de l'activité de mTORC1 dans le modèle de souris Som-Tsc1-KO a montré que la PLT induite via l'activation chimique des mGluR1a ne nécessite qu'une seule stimulation, tandis qu'une activation répétée n'est plus efficace à induire une potentialisation aux afférences excitatrices des SOM-INS. Donc, la modulation à la hausse de l'activité de mTORC1 facilite l'induction de la PLT tardive des SOM-INS.
- 4) À l'échelle du réseau hippocampique, l'induction de la PLT tardive chez les interneurons SOM a provoqué une régulation métaplastique de la PLT des collatérales de Schaffer, démontrant un rôle fonctionnel de la plasticité synaptique des interneurons SOM sur l'activité du réseau hippocampique du CA1.

Pendant que les travaux électrophysiologiques du présent mémoire étaient en cours sur les souris matures Som-EYFP, Som-raptor-KO et Som-Tsc1-KO, d'autres membres du laboratoire effectuaient en parallèle des expériences comportementales sur les mêmes lignées de souris. Donc, les résultats électrophysiologiques obtenus sont complémentaires à des résultats comportementaux obtenus dans le but d'élucider ce qui se passe à l'échelle cellulaire et dans le réseau neural hippocampique.

5.1.2. L'apprentissage contextuel basé sur la peur induit une PLT persistante dépendante de mTORC1 aux synapses excitatrices des SOM-INS.

Cette série d'expériences a permis de vérifier si l'apprentissage contextuel conditionné par la peur est capable d'induire une plasticité synaptique à long terme aux afférences excitatrices des SOM-INS dans l'aire CA1 en utilisant des enregistrements ex-vivo en mode cellule-entière 24 heures après l'entraînement. Les résultats obtenus ont montré que les SOM-INS des souris conditionnées Som-EYFP présentent une augmentation de la force des CPSE, évoqués par stimulation minimale. Ceci s'associe avec une diminution de l'intensité de la stimulation minimale sans aucun changement au niveau du ratio des impulsions paires, et enfin, une potentialisation de la fonction d'entrée-sortie des CPSE évoqués par stimulation électrique en comparaison avec la souris naïve (Artinian, Jordan et al. 2016).

Il est à noter ici qu'une diminution de l'intensité de stimulation minimale s'associe à l'augmentation de la force des CPSE évoqués, ce qui n'a pas été le cas lors de la potentialisation par induction chimique en tranche (données non-présentées). Toutefois, l'absence de changement au niveau du ratio des impulsions paires est similaire, indiquant que les événements se produisent au niveau du domaine post-synaptique plutôt que pré-synaptique (Fioravante and Regehr 2011). Cette observation diffère donc de l'induction de la PLT persistante en tranches organotypiques où la potentialisation est accompagnée d'une relâche quantique vésiculaire augmentée, ainsi qu'une augmentation de la probabilité de relâche des neurotransmetteurs (Ran, Laplante et al. 2012), comparativement avec l'induction de la PLT persistante dans les SOM-INS en tranches de souris mature où seulement le domaine post-synaptique semble être affecté.

De plus, il a été vérifié si la potentialisation induite par l'apprentissage était dépendant de mTORC1. À 24 h post-apprentissage, les SOM-INS de souris Som-raptor-KO n'ont pas présentés de potentialisation des CPSE par rapport à la souris naïve. La transmission synaptique de base n'a pas changé entre les souris naïves sauvages et transgéniques. De plus, l'application de l'antagoniste de mGluR1a JNJ6259685, 30 min avant le conditionnement des souris Som-EYFP a empêché la potentialisation induite par l'apprentissage. Ces données montrent que

l'apprentissage contextuel conditionné par la peur induit bel et bien une potentialisation persistante dépendante de mGluR1a et de mTORC1 aux afférences excitatrices des SOM-INs.

5.1.3. La délétion conditionnelle de *Raptor* spécifiquement dans les SOM-INs altère la mémoire à long terme dépendante de l'hippocampe.

Les SOM-INs dans l'hippocampe ont déjà été proposé comme support de la mémoire contextuel relié à la peur (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Schmid, Mittag et al. 2016). Étant donné que le conditionnement contextuel de la peur induit une potentialisation persistante relié directement à l'activité de mTORC1 aux afférences excitatrices des SOM-INs, les expériences suivantes ont observé les conséquences de l'altération de l'activité de mTORC1 spécifiquement dans les SOM-INs au niveau comportemental sur l'apprentissage de tâches spécifiques dépendantes de l'hippocampe (Artinian, Jordan et al. 2016).

L'équipe s'est d'abord assuré que le niveau d'anxiété et de locomotion étaient normal chez la souris Som-Raptor-KO en comparaison aux souris Som-EYFP. L'étude a porté sur l'effet de la mutation sur la mémoire hippocampe-dépendante, soit le conditionnement contextuel de la peur, et la discrimination du contexte. Lors du conditionnement, la réponse au choc électrique était similaire dans les deux groupes. La mémoire contextuelle à court terme a été inchangée, mais la mémoire contextuelle à long terme a montré un déficit dans le groupe Som-raptor-KO. Dans les essais de discrimination, le groupe Som-EYFP a montré une augmentation de la généralisation. Ainsi, le groupe Som-raptor-KO a montré une réduction de la mémoire contextuelle à long-terme et un déficit de généralisation de la mémoire contextuelle (Artinian, Jordan et al. 2016).

La mémoire de référence spatiale a également été investiguée dans les souris Som-raptor-KO en utilisant le labyrinthe de Barnes, un apprentissage de navigation spatiale et de tâches mnésiques dépendant de l'hippocampe. Les performances d'acquisition sont restées similaires, ne montrant aucun déficit d'apprentissage spatial. Durant les tests de mémoire, les souris Som-raptor-KO ont montré plus d'erreurs et ont passé moins de temps dans le quadrant cible, indiquant un déficit dans la mémoire spatiale à long terme. De plus, les souris Som-raptor-KO n'ont pas utilisé de façon significative une stratégie spatiale pour résoudre la tâche, mais plutôt une stratégie reliée au thigmotactisme ou une stratégie mixte. Ces résultats indiquent une

altération de la mémoire spatiale dépendante de l'hippocampe et suggère que l'activité de mTORC1 des interneurons SOM est nécessaire pour une mémoire spatiale à long terme intacte (Artinian, Jordan et al. 2016).

Les résultats électrophysiologiques du mémoire peuvent être reliés à ceux obtenus en expérimentation comportementale. En effet, la mutation des souris SOM-Raptor-KO altère l'induction de la PLT tardive aux inputs excitateurs des SOM-INS, tout comme la mémoire à long terme contextuelle et de référence spatiale. Ainsi, une connexion semble présente entre l'induction de la PLT tardive des SOM-INS et la mémoire contextuelle et de référence spatiale chez les souris SOM-Raptor-KO, suggérant que mTORC1 serait nécessaire pour l'induction de PLT dans les SOM-INS et pour des performances mnésiques intactes.

5.1.4. La délétion conditionnelle de *Tsc1* dans les SOM-INS améliore la mémoire à long terme dépendante de l'hippocampe.

Des expérimentations comportementales similaires ont été exercées sur les souris Som-Tsc1-KO afin d'étudier l'effet d'une régulation à la hausse de l'activité de mTORC1 dans les interneurons SOM. Dans le test "open field", les souris Som-Tsc1-KO ont présenté un niveau d'anxiété similaire, et une légère augmentation de locomotion comparativement au groupe Som-EYFP. Par la suite, les observations ont été faites sur le conditionnement contextuel de la peur et sur la discrimination contextuelle. Les deux groupes ont répondu de façon similaire au choc électrique durant le conditionnement, indiquant une réponse sensorimotrice intacte. Les souris Som-Tsc1-KO ont montré une augmentation de mémoire contextuelle à long terme, ainsi qu'un accroissement de la généralisation de la mémoire contextuelle. Les résultats obtenus montrent que la régulation à la hausse de l'activité de mTORC1 est suffisante pour améliorer la mémoire contextuelle conditionné par la peur, ainsi que la généralisation du contexte (Artinian, Honore et al. 2018).

La mémoire de référence spatiale a également été testée en labyrinthe de Barnes. Les souris Som-Tsc1-KO ont mieux performé durant l'acquisition et ont montré une meilleure mémoire à long terme, en atteignant la cible avec moins d'erreurs, une latence plus courte, une distance parcouru réduite, ainsi qu'une recherche plus sélective de la cible, comparativement

aux souris Som-EYFP. Donc, les souris Som-Tsc1-KO ont démontrées un apprentissage spatial et une mémoire à long terme spatiale plus efficace (Artinian, Honore et al. 2018).

Les résultats du mémoire obtenus en électrophysiologie concordent encore une fois avec ceux obtenues en expérimentation comportementale pour la souche de souris Som-Tsc1-KO. En effet, la mutation facilite l'induction de la PLT tardive aux inputs excitateurs des SOM-INs, tout comme elle augmente la mémoire à long terme contextuelle et spatiale. Ainsi, une connexion semble être présente entre l'induction facilitée de la PLT tardive des SOM-INs dans les souris Som-Tsc1-KO et une meilleure mémoire contextuelle et de référence spatiale.

Il est intéressant de noter que ces résultats sont l'inverse du phénotype obtenu dans les souris Som-Raptor-KO, suggérant que la relation entre le changement de l'activité de mTORC1 et les effets sur la mémoire contextuelle et spatiale sont bi-directionnels.

5.1.5. Rôle de mTORC1 dans la PLT tardive

La protéine mTOR est une kinase qui est associé avec deux complexes différents, les complexes mTORC1 et mTORC2, dont la fonction sont le contrôle de la croissance cellulaire, de la prolifération et de la migration (Saxton and Sabatini 2017). Raptor est un composant essentiel de mTORC1 jouant un rôle dans la croissance cellulaire principalement en régulant la synthèse protéique et le renouvellement des protéines, tout comme le métabolisme des lipides, des nucléotides et du glucose (Dowling, Topisirovic et al. 2010, Hoeffler and Klann 2010, Wang and Proud 2011, Saxton and Sabatini 2017). Au sein de l'animal mature, mTORC1 régule la synthèse protéique durant la plasticité synaptique (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2009). Il a été montré qu'une recombinaison conditionnelle de *Rptor* dans les neurones exprimant la protéine Cre recombinase sous le contrôle du promoteur codant pour la somatostatine a résulté en une délétion effective suffisamment tardive pour ne pas altérer le développement des SOM-INs (Artinian, La Fontaine et al. 2015, Artinian, Jordan et al. 2016). Ainsi, la délétion conditionnelle tardive de *Rptor* dans les souris Som-Raptor-KO nous a permis d'examiner le rôle de mTORC1 dans les SOM-INs matures. Des observations similaires ont été conclues envers la délétion conditionnelle de *Tsc1* dans les souris Som-Tsc1-KO (Artinian, Honore et al. 2018).

Le contrôle de la synthèse protéique par mTORC1 dans la plasticité synaptique a été largement caractérisé au sein des cellules pyramidales du CA1 (Costa-Mattioli, Sossin et al. 2009, Santini, Huynh et al. 2014). Les résultats du laboratoire suggèrent que certains aspects de la fonction de mTORC1 dans la plasticité synaptique sont spécifiques du type cellulaire. Les résultats du mémoire ont démontré que l'activation de mGluR1 dans les SOM-INS conduit à une PLT persistante aux afférences excitatrices dépendante de mTORC1 (Ran, Laplante et al. 2009). Au niveau des cellules pyramidales, l'activation des mGluR1/5 produit une dépression à long-terme des synapses des CS dépendante de mTORC1. Le contrôle de la traduction par mTORC1 est donc spécifique au type cellulaire et cible des protéines synaptiques différentes dans les cellules pyramidales et les interneurons SOM.

La spécificité cellulaire du fonctionnement de mTORC1 est supportée par la découverte que la régulation traductionnelle de mTORC1 via un de ces majeurs effecteurs, le répresseur traductionnel *eukaryotic Initiation Factor 4E Binding Protein* (eIF4E-BP), contrôle différenciellement la transmission synaptique dans les cellules pyramidales et dans les interneurons. Dans les cellules pyramidales, le knock-out d'eIF4E-BP résulte en une augmentation de la transmission synaptique excitatrice de base (Ran, Gkogkas et al. 2013), une diminution du seuil d'induction de la PLT tardive, et un blocage de la PLT tardive induite par les paradigmes normaux (Banko, Poulin et al. 2005). En contrepartie, dans les interneurons inhibiteurs O-LM de l'hippocampe, le knock-out d'eIF4E-BP n'affecte pas la transmission excitatrice de base, mais diminue le seuil d'induction de la PLT tardive sans affecter la PLT tardive induite par les paradigmes normaux (Ran, Laplante et al. 2009).

Les résultats obtenus en étudiant les SOM-INS des souris Som-Tsc1-KO sont similaires en partie aux résultats obtenus chez la souris KO pour eIF4E-BP. Les travaux complémentaires effectués dans le laboratoire du Dr Lacaille indique que la délétion conditionnelle de Tsc1 dans les SOM-INS augmente l'activité de mTORC1 tel qu'indiqué par l'augmentation de la phosphorylation de la protéine ribosomale S6 en condition de base dans ces cellules (Artinian, Honore et al. 2018). De plus, l'augmentation de la phosphorylation basale produit une occlusion de l'augmentation induite dans les SOM-INS par la stimulation des mGluR1. En corrélation avec l'augmentation de l'activité de mTORC1, nos résultats montrent que le seuil d'induction de la PLT tardive dépendante de mGluR1 et de mTORC1 dans les SOM-INS de souris Som-Tsc1-KO

a été diminué, sans aucun changement dans la transmission excitatrice de base. Donc, la régulation à la hausse de l'activité de mTORC1, en combinaison avec une récurrente activité synaptique, n'est pas suffisante pour induire une potentialisation synaptique, et l'activation des mGluR1 semble nécessaire. Un autre fait intéressant est que la simulation répétée des mGluR1 n'a pas induit de PLT tardive au sein des SOM-INS de souris Som-Tsc1-KO, suggérant la présence d'un mécanisme homéostatique en aval de mTORC1, possiblement dans les voies de signalisation de S6K/4E-BP2/eIF4E, afin de prévenir la traduction excessive ou non sélective des ARNm, tel que suggéré pour les cellules pyramidales (Banko, Poulin et al. 2005).

5.1.6. Rôle de la PLT dépendante de mTORC1 dans la régulation du réseau hippocampique et dans l'apprentissage et la mémoire

Il a été précédemment mentionné que les souris Som-Tsc1-KO ont manifesté une mémoire contextuelle et une mémoire spatiale améliorée, tout comme une discrimination contextuelle altérée, suggérant qu'une régulation à la hausse de l'activité de mTORC1 dans les SOM-INS est suffisante afin d'altérer la consolidation de la mémoire hippocampique. Les effets de l'expression régulée à la baisse de *Tsc1* sont contraires aux effets observés pour la délétion de *Raptor* et suggère que le niveau d'activité de mTORC1 détermine le niveau de plasticité synaptique persistante dans les SOM-INS et de la consolidation de la mémoire. La sclérose tubéreuse de Bourneville est une maladie génétique causée par une mutation du gène *Tsc1* qui résulte en une activité excessive de mTORC1 ainsi qu'en de sévères complications neurologiques et psychiatriques (Costa-Mattioli and Monteggia 2013). Les résultats obtenus à partir des souris Som-Tsc1-KO soulève donc la possibilité que le dérèglement de l'activité de mTORC1 et de la plasticité synaptique dans les SOM-INS contribue à une altération cognitive dans la sclérose tubéreuse de Bourneville.

Les interneurons O-LM représentent un groupe majeur des SOM-INS dans l'aire CA1 de l'hippocampe. Ces interneurons inhibent les afférences de la voie temporo-ammonique aux dendrites distales des cellules pyramidales dans le *stratum lacunosum-moleculare* (Freund and Buzsaki 1996, Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Pelkey, Chittajallu et al. 2017), tandis que leurs projections axonales dans le *stratum radiatum* inhibent des interneurons qui à leur tour, inhibent les afférences des collatérales de Schaffer envers les cellules pyramidales (Katona,

Acsady et al. 1999, Leao, Mikulovic et al. 2012). Donc, les interneurons O-LM contrôlent différenciellement la plasticité des deux voies principales sur les cellules pyramidales: ils inhibent et restreignent la PLT des synapses provenant de la voie temporo-ammonique; et ils désinhibent et augmentent la PLT des collatérales de Schaffer (Leao, Mikulovic et al. 2012, Vasuta, Artinian et al. 2015, Hurtado-Zavala, Ramachandran et al. 2017, Artinian and Lacaille 2018). La PLT hébienne dépendante de mGluR1a aux afférences excitatrices des interneurons O-LM est traduite en une augmentation de la décharge de potentiel d'action induite synaptiquement (Croce, Pelletier et al. 2010), fournissant une base synaptique pour l'augmentation de l'inhibition de leurs cibles en aval. De plus, l'induction de la PLT hébienne dépendante de mGluR1a dans les SOM-INS régule à la hausse la PLT de la voie des collatérales de Schaffer pour une période de plusieurs minutes (Vasuta, Artinian et al. 2015). Cependant, dans ce mémoire, il est démontré que l'induction de la PLT tardive des interneurons SOM peut réguler à la hausse la PLT des collatérales de Schaffer pour un intervalle d'au moins deux heures.

Dans la présente étude, ainsi que dans les études précédentes, plusieurs conditions physiologiques ont été identifiées dans laquelle l'activité de mTORC1 est nécessaire pour le déclenchement d'une potentialisation persistante des afférences excitatrices aux SOM-INS, soit par activation des mGluR1 en tranche en culture (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012) et en tranches aigües, la stimulation des fibres afférentes en tranches aigües, et enfin par le conditionnement contextuel. Les données suggèrent que la potentialisation persistante des afférences excitatrices des SOM-INS induites sous ces conditions partagent des similitudes au niveau du mécanisme d'induction. De ce fait, le conditionnement contextuel par la peur est susceptible d'engager l'activité synaptique excitatrice des cellules pyramidales du CA1 et l'activation locale des SOM-INS pour induire une PLT tardive dépendante de mGluR1 et de mTORC1 spécifiquement à ces synapses (Ran, Laplante et al. 2009, Ran, Laplante et al. 2012).

Par conséquent, les résultats présentés dans ce mémoire suggèrent un modèle (Fig. 5.1) dans lequel la stimulation des mGluR1 durant l'apprentissage 1) induit une potentialisation à long terme tardive dépendante de mTORC1 aux afférences synaptiques des SOM-INS en coïncidant l'activation pré-synaptique local des cellules pyramidales et post-synaptique des SOM-INS, 2) résultant en une désinhibition de longue durée des inputs des collatérales de Schaffer aux cellules pyramidales via une augmentation de l'inhibition d'interneurones

inhibiteurs intercalés, et conséquemment, régulant à la hausse la métaplasticité du réseau CA1 en renforçant positivement la PLT des synapses CS-cellules pyramidales.

En ce qui a trait à la dépression à long terme de l'inhibition des interneurons intercalés dans le *stratum radiatum*, tout porte à attribuer cette dépression à l'inhibition des interneurons exprimant la cholécystokinine (CCK) (Basu, Srinivas et al. 2013). En association avec l'inhibition des interneurons des projections de longue distance localisés dans le cortex entorhinal (Melzer, Michael et al. 2012, Basu, Zaremba et al. 2016), la PLT des SOM-INS semble être un mécanisme complémentaire pour la désinhibition des afférences des CS aux CP (Artinian and Lacaille 2018).

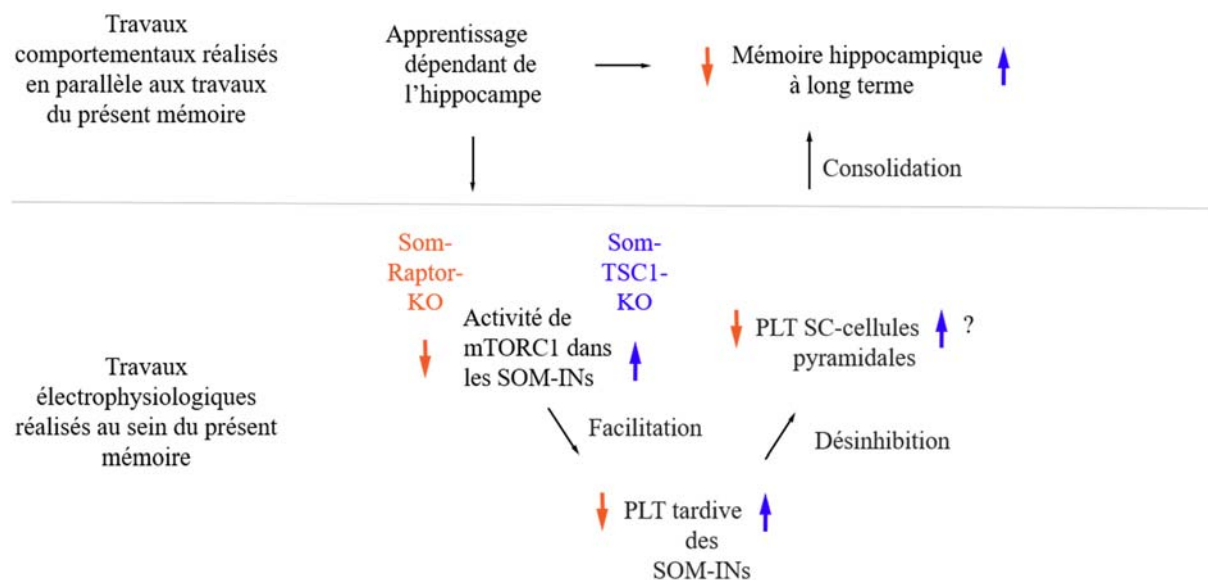


Fig. 5.1 Modèle de régulation de la mémoire hippocampique par la PLT tardive dépendante de mTORC1 dans les interneurons exprimant la somatostatine de l'aire CA1.

L'apprentissage dépendant de l'hippocampe fait décharger les cellules pyramidales de l'aire CA1 hippocampique qui augmentent, via leurs voies récurrentes excitatrices, l'activité de mTORC1 dans les interneurons SOM et induisent une potentialisation à long terme tardive aux afférences excitatrices des interneurons SOM. Cette potentialisation cause une désinhibition et une augmentation de la plasticité synaptique des collatérales de Schaffer sur les cellules pyramidales du CA1. L'augmentation de la PLT dans la voie principale du CA1 favoriserait la consolidation de la mémoire hippocampique à long terme. Figure tirée et adaptée de (Artinian, Honore et al. 2018).

5.1.7. Perspectives futures

5.1.7.1. Séquençage d'ARNm traduit par activation de mTORC1 dans la plasticité des SOM-INS.

L'activation des mGluR1/5 dans les cellules pyramidales a montré une induction d'une dépression à long terme (DLT) dépendante de mTORC1 aux afférences excitatrices (Banko, Hou et al. 2006). Récemment, l'activation de mTORC2 via les mGluR1/5 dans les cellules pyramidales a montré avoir un rôle à jouer dans l'induction d'une DLT, ainsi que dans le test de reconnaissance d'un nouvel objet (Zhu, Chen et al. 2018). De cette façon, le contrôle traductionnel dépendant de mTORC1 ainsi que possiblement de mTORC2, régulerait la traduction de différents ARNm afin d'enclencher une dépression aux afférences des cellules pyramidales ou une potentialisation des synapses des interneurones. De plus, dans certains interneurones d'inhibition péri-somatique des cellules pyramidales, une DLT dépendante des endocannabinoïdes requiert l'activation pré-synaptique de la synthèse protéique dépendante de mTORC1 afin de réguler à la baisse le relâche vésiculaire du GABA (Younts, Monday et al. 2016).

L'identification d'ARNm spécifique sous le contrôle de mTORC1 dans différentes classes de neurones serait importante à élucider afin de clarifier le fonctionnement de mTORC1 dans la plasticité synaptique des interneurones SOM. Pour ce faire, l'identification est possible par profilage des ribosomes à l'échelle du génome (Ingolia, Ghaemmaghami et al. 2009) en utilisant des souris SOM-Cre et des souris RiboTag exprimant une sous-unité ribosomale marquée Cre-dépendante, collectée par immunoprécipitation et suivi par une récupération des empreintes d'ARNm des ribosomes marqués et du séquençage d'ARN (Doyle, Dougherty et al. 2008).

5.1.7.2. Inhibition sélective du réseau CA1 par la plasticité synaptique à long terme des SOM-INS

À l'échelle du réseau, les cellules O-LM sont reconnues pour favoriser l'activité d'une voie d'entrée synaptique aux cellules pyramidales du CA1 par rapport à une autre. Ainsi, une plasticité aux afférences excitatrices des SOM-INS priorise un renforcement synaptique de la

voie des collatérales de Schaffer par rapport à la voie temporo-ammonique. Cette régulation différentielle serait nécessaire pour la formation du contexte durant le conditionnement contextuel et pour exclure l'évènement sensoriel aversif (Leao, Mikulovic et al. 2012, Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Muller and Remy 2014). Ayant démontré dans le présent mémoire, que la PLT tardive aux afférences excitatrices des SOM-INs renforce la PLT des CS, il serait intéressant d'observer si la plasticité des interneurones produit une dépression de la PLT de la voie temporo-ammonique lors d'enregistrement de potentiel de champs.

De plus, il serait important aussi de trouver l'identité du type d'interneurone inhibé par les SOM-INs lors de la métaplasticité de la PLT des CS aux cellules pyramidales. Certains travaux suggèrent que les interneurones exprimant la cholecystokinine (CCK-INs) et qui sont localisés dans le *stratum radiatum* pourraient inhiber de façon directe les dendrites proximales des cellules pyramidales du CA1 (Leao, Mikulovic et al. 2012, Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014, Fuhrmann, Justus et al. 2015). Ces interneurones CCK peuvent être ciblés sélectivement en utilisant une souche de souris transgénique de mutation double (CCK-IRES-Cre JAX # 012706 et Dlx5/6-Flpe JAX # 010815) et une lignée de souris portant le gène rapporteur EGFP (R26NZG JAX # 012429) (Basu, Zaremba et al. 2016). En utilisant des enregistrements de cellule entière en mode voltage imposé à partir d'interneurones CCK dans le *stratum radiatum* en tranches aigües, il serait possible d'observer si le protocole d'induction par téτανisation de SBT dans l'alveus induit une PLT d'inhibition polysynaptique via mGluR1a chez ces interneurones en utilisant l'antagoniste LY367385 (Vasuta, Artinian et al. 2015). Ces résultats montreraient si la PLT de l'inhibition des interneurones CCK dans le *stratum radiatum* est dépendante de l'activation des mGluR1a. L'étude pourrait être approfondie en utilisant des souris transgéniques dans lesquelles les interneurones CCK sont infectés par un virus rAAV pour l'expression de la protéine *channelrhodopsin 2* (ChR2) dépendante de la Cre- et de flpe- (Fenno, Mattis et al. 2014) afin de les activer ou inactiver par optogénétique et observer les conséquences sur la métaplasticité régulatrice de la PLT des CS aux cellules pyramidales.

5.1.7.3. Étude de la PLT persistante aux afférences excitatrices des SOM-INs in vivo

Plusieurs mécanismes d'induction ont été utilisés au sein du laboratoire Lacaille pour induire la PLT tardive chez les SOM-INs. Cependant, tous les enregistrements effectués ont été fait ex vivo. Afin d'avoir un meilleur aperçu de la fonction de la PLT tardive aux afférences

excitatrices des SOM-INS, il faudrait induire cette PLT in vivo par apprentissage d'une tâche spécifique de l'hippocampe et enregistrer s'il y a des changements de longue durée au niveau des épines dendritiques, de l'activité synaptique calcique et de la réponse des SOM-INS.

Une fenêtre hippocampique peut être installée sur le crâne des souris et la microscopie 2-photon utilisée sur l'animal immobilisé, en restreignant le mouvement de la tête (Lovett-Barron, Kaifosh et al. 2014). Les réponses calciques dendritiques et la morphologie des épines dendritiques pourraient être évaluées durant l'apprentissage contextuel et en fonction de l'activité de mTORC1. Grâce à l'imagerie au microscope 2-photon, l'activité calcique pourrait être enregistrée en croisant les souris SOM-Cre avec des souris GCamp6f ayant subi une implantation de fenêtre crâniale. Les changements pourraient être perçus au niveau des réponses synaptiques calciques transitoires spontanées avant et après le conditionnement contextuel. L'étude porterait sur la nécessité de l'activité mTORC1 pendant l'entraînement chez la souris éveillée.

5.1.7.4. Conclusion

Le travail présenté dans ce mémoire montre le rôle de la plasticité synaptique à long terme aux afférences excitatrices des SOM-INS dans la régulation du réseau de l'aire CA1. Les résultats montrent que la PLT tardive est présente en tranches aigües chez la souris mature et est dépendante des mGluR1 et de l'activité de mTORC1. De plus, cette plasticité est bi-directionnellement dépendante de l'activité mTORC1 chez les interneurons SOM. Finalement, cette plasticité régule à la hausse la PLT de la voie des collatérales de Schaffer, possiblement par désinhibition. Ces résultats soulignent l'importance fonctionnelle de la plasticité synaptique des interneurons SOM dans l'intégration de l'information dans le réseau hippocampique.

Chapitre 6

Bibliographie

Abel, T., P. V. Nguyen, M. Barad, T. A. Deuel, E. R. Kandel and R. Bourtchouladze (1997). "Genetic demonstration of a role for PKA in the late phase of LTP and in hippocampus-based long-term memory." Cell **88**(5): 615-626.

Alle, H., P. Jonas and J. R. Geiger (2001). "PTP and LTP at a hippocampal mossy fiber-interneuron synapse." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(25): 14708-14713.

Amaral, D. G. and M. P. Witter (1989). "The three-dimensional organization of the hippocampal formation: a review of anatomical data." Neuroscience **31**(3): 571-591.

Andersen, P., S. H. Sundberg, O. Sveen and H. Wigstrom (1977). "Specific long-lasting potentiation of synaptic transmission in hippocampal slices." Nature **266**(5604): 736-737.

Andersen, P., R. Morris, D. Amaral, T. Bliss and J. O'Keefe (2006). The hippocampus book. Oxford University Press.

Anwyl, R., D. Mulkeen and M. J. Rowan (1989). "The role of N-methyl-D-aspartate receptors in the generation of short-term potentiation in the rat hippocampus." Brain Res **503**(1): 148-151.

Arnetoli, G., P. Caffarra, M. Paganini, F. Zappoli, L. Nencioni and M. Parma (1983). "[Permanent amnesia as a result of a bilateral lesion of the hippocampus: description of a clinical case]." Riv Patol Nerv Ment **104**(4): 151-157.

Artinian, J., E. Honore, A. W. Jordan, A. Khlaifia, I. Laplante and J. C. Lacaille (2018). Cell-specific knockdown of Tsc1 increases mTORC1 signaling and facilitates late LTP induction in somatostatin interneurons and promotes long-term hippocampal memory. Program No. 425.09/III51. Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2018. Online.

Artinian, J., A. Jordan, A. La Fontaine, M. Maurer, I. Laplante and J.-C. Lacaille (2016). Learning-induced mTORC1-dependent synaptic plasticity in somatostatin interneurons regulates hippocampal network plasticity and memory. Program No. 177.25/III15. Neuroscience Meeting Planner. San Diego, CA: Society for Neuroscience, 2016. Online.

Artinian, J., A. La Fontaine, M. Maurer, I. Laplante, K. Gamache, K. Nader and J. C. Lacaille (2015). Cell type-specific mTORC1 function in somatostatin-expressing interneurons regulates hippocampal network plasticity and memory. Program No. 392.18/C66. Neuroscience Meeting Planner. Chicago, IL: Society for Neuroscience, 2015. Online.

Artinian, J. and J. C. Lacaille (2018). "Disinhibition in learning and memory circuits: New vistas for somatostatin interneurons and long-term synaptic plasticity." Brain Res Bull **141**: 20-26.

Banko, J. L., L. Hou, F. Poulin, N. Sonenberg and E. Klann (2006). "Regulation of eukaryotic initiation factor 4E by converging signaling pathways during metabotropic glutamate receptor- dependent long-term depression." J Neurosci **26**(8): 2167-2173.

Banko, J. L., F. Poulin, L. Hou, C. T. DeMaria, N. Sonenberg and E. Klann (2005). "The translation repressor 4E-BP2 is critical for eIF4F complex formation, synaptic plasticity, and memory in the hippocampus." J Neurosci **25**(42): 9581-9590.

Barnes, C. A. (1979). "Memory deficits associated with senescence: a neurophysiological and behavioral study in the rat." J Comp Physiol Psychol **93**(1): 74-104.

Basar, E. and A. Duzgun (2016). "The brain as a working syncytium and memory as a continuum in a hyper timespace: Oscillations lead to a new model." Int J Psychophysiol **103**: 199-214.

Basu, J. and S. A. Siegelbaum (2015). "The Corticohippocampal Circuit, Synaptic Plasticity, and Memory." Cold Spring Harb Perspect Biol **7**(11).

Basu, J., K. V. Srinivas, S. K. Cheung, H. Taniguchi, Z. J. Huang and S. A. Siegelbaum (2013). "A cortico-hippocampal learning rule shapes inhibitory microcircuit activity to enhance hippocampal information flow." Neuron **79**(6): 1208-1221.

Basu, J., J. D. Zaremba, S. K. Cheung, F. L. Hitti, B. V. Zemelman, A. Losonczy and S. A. Siegelbaum (2016). "Gating of hippocampal activity, plasticity, and memory by entorhinal cortex long-range inhibition." Science **351**(6269): aaa5694.

Boehm, J., M. G. Kang, R. C. Johnson, J. Esteban, R. L. Huganir and R. Malinow (2006). "Synaptic incorporation of AMPA receptors during LTP is controlled by a PKC phosphorylation site on GluR1." Neuron **51**(2): 213-225.

Buffington, S. A., W. Huang and M. Costa-Mattioli (2014). "Translational control in synaptic plasticity and cognitive dysfunction." Annu Rev Neurosci **37**: 17-38.

Buzsaki, G. and B. O. Watson (2012). "Brain rhythms and neural syntax: implications for efficient coding of cognitive content and neuropsychiatric disease." Dialogues Clin Neurosci **14**(4): 345-367.

Cammalleri, M., R. Lutchens, F. Berton, A. R. King, C. Simpson, W. Francesconi and P. P. Sanna (2003). "Time-restricted role for dendritic activation of the mTOR-p70S6K pathway in the induction of late-phase long-term potentiation in the CA1." Proc Natl Acad Sci U S A **100**(24): 14368-14373.

Cheung, T. H. and R. N. Cardinal (2005). "Hippocampal lesions facilitate instrumental learning with delayed reinforcement but induce impulsive choice in rats." BMC Neurosci **6**: 36.

Choi, J. H., S. E. Sim, J. I. Kim, D. I. Choi, J. Oh, S. Ye, J. Lee, T. Kim, H. G. Ko, C. S. Lim and B. K. Kaang (2018). "Interregional synaptic maps among engram cells underlie memory formation." Science **360**(6387): 430-435.

Cipolotti, L. and C. M. Bird (2006). "Amnesia and the hippocampus." Curr Opin Neurol **19**(6): 593-598.

Costa-Mattioli, M. and L. M. Monteggia (2013). "mTOR complexes in neurodevelopmental and neuropsychiatric disorders." Nat Neurosci **16**(11): 1537-1543.

Costa-Mattioli, M., W. S. Sossin, E. Klann and N. Sonenberg (2009). "Translational control of long-lasting synaptic plasticity and memory." Neuron **61**(1): 10-26.

Croce, A., J. G. Pelletier, M. Tartas and J.-C. Lacaille (2010). "Afferent-specific properties of interneuron synapses underlie selective long-term regulation of feedback inhibitory circuits in CA1 hippocampus." The Journal of Physiology **588**(12): 2091-2107.

Derkach, V., A. Barria and T. R. Soderling (1999). "Ca²⁺/calmodulin-kinase II enhances channel conductance of alpha-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionate type glutamate receptors." Proc Natl Acad Sci U S A **96**(6): 3269-3274.

Dowling, R. J., I. Topisirovic, B. D. Fonseca and N. Sonenberg (2010). "Dissecting the role of mTOR: lessons from mTOR inhibitors." Biochim Biophys Acta **1804**(3): 433-439.

Doyle, J. P., J. D. Dougherty, M. Heiman, E. F. Schmidt, T. R. Stevens, G. Ma, S. Bupp, P. Shrestha, R. D. Shah, M. L. Doughty, S. Gong, P. Greengard and N. Heintz (2008). "Application of a translational profiling approach for the comparative analysis of CNS cell types." Cell **135**(4): 749-762.

Dufour, M. A., A. Woodhouse and J. M. Goillard (2014). "Somatodendritic ion channel expression in substantia nigra pars compacta dopaminergic neurons across postnatal development." J Neurosci Res **92**(8): 981-999.

Dunlop, E. A., K. M. Dodd, L. A. Seymour and A. R. Tee (2009). "Mammalian target of rapamycin complex 1-mediated phosphorylation of eukaryotic initiation factor 4E-binding protein 1 requires multiple protein-protein interactions for substrate recognition." Cell Signal **21**(7): 1073-1084.

Ehninger, D., S. Han, C. Shilyansky, Y. Zhou, W. Li, D. J. Kwiatkowski, V. Ramesh and A. J. Silva (2008). "Reversal of learning deficits in a Tsc2^{+/-} mouse model of tuberous sclerosis." Nat Med **14**(8): 843-848.

English, J. D. and J. D. Sweatt (1997). "A requirement for the mitogen-activated protein kinase cascade in hippocampal long term potentiation." J Biol Chem **272**(31): 19103-19106.

Esteban, J. A., S. H. Shi, C. Wilson, M. Nuriya, R. L. Huganir and R. Malinow (2003). "PKA phosphorylation of AMPA receptor subunits controls synaptic trafficking underlying plasticity." Nat Neurosci **6**(2): 136-143.

Fenno, L. E., J. Mattis, C. Ramakrishnan, M. Hyun, S. Y. Lee, M. He, J. Tucciarone, A. Selimbeyoglu, A. Berndt, L. Grosenick, K. A. Zalocusky, H. Bernstein, H. Swanson, C. Perry, I. Diester, F. M. Boyce, C. E. Bass, R. Neve, Z. J. Huang and K. Deisseroth (2014). "Targeting cells with single vectors using multiple-feature Boolean logic." Nat Methods **11**(7): 763-772.

Fioravante, D. and W. G. Regehr (2011). "Short-term forms of presynaptic plasticity." Curr Opin Neurobiol **21**(2): 269-274.

Freund, T. F. and G. Buzsaki (1996). "Interneurons of the hippocampus." Hippocampus **6**(4): 347-470.

Frey, U., Y. Y. Huang and E. R. Kandel (1993). "Effects of cAMP simulate a late stage of LTP in hippocampal CA1 neurons." Science **260**(5114): 1661-1664.

Frey, U., M. Krug, K. G. Reymann and H. Matthies (1988). "Anisomycin, an inhibitor of protein synthesis, blocks late phases of LTP phenomena in the hippocampal CA1 region in vitro." Brain Res **452**(1-2): 57-65.

Fuhrmann, F., D. Justus, L. Sosulina, H. Kaneko, T. Beutel, D. Friedrichs, S. Schoch, M. K. Schwarz, M. Fuhrmann and S. Remy (2015). "Locomotion, Theta Oscillations, and the Speed- Correlated Firing of Hippocampal Neurons Are Controlled by a Medial Septal Glutamatergic Circuit." Neuron **86**(5): 1253-1264.

Gkogkas, C., N. Sonenberg and M. Costa-Mattioli (2010). "Translational control mechanisms in long-lasting synaptic plasticity and memory." J Biol Chem **285**(42): 31913-31917.

Gutierrez Aceves, G. A., M. A. Celis Lopez, M. Alonso Vanegas, O. R. Marrufo Melendez, S. Moreno Jimenez, J. C. Perez Cruz, R. Diaz Peregrino, A. Gonzalez Aguilar and J. A. Herrera Gonzalez (2018). "Fractal anatomy of the hippocampal formation." Surg Radiol Anat.

Hainmueller, T., K. Kriegstein, A. Kulik and M. Bartos (2014). "Joint CP-AMPA and group I mGlu receptor activation is required for synaptic plasticity in dentate gyrus fast-spiking interneurons." Proc Natl Acad Sci U S A **111**(36): 13211-13216.

Hanse, E., H. Seth and I. Riebe (2013). "AMPA-silent synapses in brain development and pathology." Nat Rev Neurosci **14**(12): 839-850.

Hay, N. and N. Sonenberg (2004). "Upstream and downstream of mTOR." Genes Dev **18**(16): 1926-1945.

Hitti, F. L. and S. A. Siegelbaum (2014). "The hippocampal CA2 region is essential for social memory." Nature **508**(7494): 88-92.

Hobbie, Russell K, Roth and B. J (2015). Intermediate physics for medicine and biology. S. I. Publishing. Switzerland: 629.

Hoeffler, C. A. and E. Klann (2010). "mTOR signaling at the crossroads of plasticity, memory and disease." Trends Neurosci **33**(2): 67-75.

Hoeffler, C. A., W. Tang, H. Wong, A. Santillan, R. J. Patterson, L. A. Martinez, M. V. Tejada-Simon, R. Paylor, S. L. Hamilton and E. Klann (2008). "Removal of FKBP12 enhances mTOR-Raptor interactions, LTP, memory, and perseverative/repetitive behavior." Neuron **60**(5): 832-845.

Hurtado-Zavala, J. I., B. Ramachandran, S. Ahmed, R. Halder, C. Bolleyer, A. Awasthi, M. A. Stahlberg, R. J. Wagener, K. Anderson, R. M. Drenan, H. A. Lester, J. M. Miwa, J. F. Staiger, A. Fischer and C. Dean (2017). "TRPV1 regulates excitatory innervation of OLM neurons in the hippocampus." Nat Commun **8**: 15878.

Impey, S., K. Obrietan, S. T. Wong, S. Poser, S. Yano, G. Wayman, J. C. Deloulme, G. Chan and D. R. Storm (1998). "Cross talk between ERK and PKA is required for Ca²⁺ stimulation of CREB-dependent transcription and ERK nuclear translocation." Neuron **21**(4): 869-883.

Ingolia, N. T., S. Ghaemmaghami, J. R. Newman and J. S. Weissman (2009). "Genome-wide analysis in vivo of translation with nucleotide resolution using ribosome profiling." Science **324**(5924): 218-223.

- Isaac, J. T., R. A. Nicoll and R. C. Malenka (1995). "Evidence for silent synapses: implications for the expression of LTP." Neuron **15**(2): 427-434.
- Jones, M. W. and T. J. McHugh (2011). "Updating hippocampal representations: CA2 joins the circuit." Trends Neurosci **34**(10): 526-535.
- Julien, L. A., A. Carriere, J. Moreau and P. P. Roux (2010). "mTORC1-activated S6K1 phosphorylates Rictor on threonine 1135 and regulates mTORC2 signaling." Mol Cell Biol **30**(4): 908-921.
- Kandel, E. R. (2001). "The molecular biology of memory storage: a dialogue between genes and synapses." Science **294**(5544): 1030-1038.
- Kandel, E. R., Y. Dudai and M. R. Mayford (2014). "The molecular and systems biology of memory." Cell **157**(1): 163-186.
- Kandel, E. R., J. H. Schwartz and T. M. Jessel (2000). Principles of neural science. McGraw-Hill New York.
- Karnani, M. M., J. Jackson, I. Ayzenshtat, A. Hamzehei Sichani, K. Manoocheri, S. Kim and R. Yuste (2016). "Opening Holes in the Blanket of Inhibition: Localized Lateral Disinhibition by VIP Interneurons." J Neurosci **36**(12): 3471-3480.
- Katona, I., L. Acsady and T. F. Freund (1999). "Postsynaptic targets of somatostatin-immunoreactive interneurons in the rat hippocampus." Neuroscience **88**(1): 37-55.
- Kepecs, A. and G. Fishell (2014). "Interneuron cell types are fit to function." Nature **505**(7483): 318-326.
- Klausberger, T. and P. Somogyi (2008). "Neuronal diversity and temporal dynamics: the unity of hippocampal circuit operations." Science **321**(5885): 53-57.
- Kullmann, D. M. and K. P. Lamsa (2007). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal interneurons." Nat Rev Neurosci **8**(9): 687-699.
- Kullmann, D. M., A. W. Moreau, Y. Bakiri and E. Nicholson (2012). "Plasticity of inhibition." Neuron **75**(6): 951-962.
- Lamsa, K., J. H. Heeroma and D. M. Kullmann (2005). "Hebbian LTP in feed-forward inhibitory interneurons and the temporal fidelity of input discrimination." Nat Neurosci **8**(7): 916-924.

Laplante, M. and D. M. Sabatini (2012). "mTOR signaling in growth control and disease." Cell **149**(2): 274-293.

Laplante, M. and D. M. Sabatini (2013). "Regulation of mTORC1 and its impact on gene expression at a glance." J Cell Sci **126**(Pt 8): 1713-1719.

Lapointe, V., F. Morin, S. Ratte, A. Croce, F. Conquet and J. C. Lacaille (2004). "Synapse-specific mGluR1-dependent long-term potentiation in interneurons regulates mouse hippocampal inhibition." J Physiol **555**(Pt 1): 125-135.

Le Vasseur, M., I. Ran and J. C. Lacaille (2008). "Selective induction of metabotropic glutamate receptor 1- and metabotropic glutamate receptor 5-dependent chemical long-term potentiation at oriens/alveus interneuron synapses of mouse hippocampus." Neuroscience **151**(1): 28-42.

Leao, R. N., S. Mikulovic, K. E. Leao, H. Munguba, H. Gezelius, A. Enjin, K. Patra, A. Eriksson, L. M. Loew, A. B. Tort and K. Kullander (2012). "OLM interneurons differentially modulate CA3 and entorhinal inputs to hippocampal CA1 neurons." Nat Neurosci **15**(11): 1524- 1530.

Lee, K. S. (1983). "Cooperativity among afferents for the induction of long-term potentiation in the CA1 region of the hippocampus." J Neurosci **3**(7): 1369-1372.

Liao, D., N. A. Hessler and R. Malinow (1995). "Activation of postsynaptically silent synapses during pairing-induced LTP in CA1 region of hippocampal slice." Nature **375**(6530): 400-404.

Lisman, J., R. Yasuda and S. Raghavachari (2012). "Mechanisms of CaMKII action in long-term potentiation." Nat Rev Neurosci **13**(3): 169-182.

Lovett-Barron, M., P. Kaifosh, M. A. Kheirbek, N. Danielson, J. D. Zaremba, T. R. Reardon, G. F. Turi, R. Hen, B. V. Zemelman and A. Losonczy (2014). "Dendritic inhibition in the hippocampus supports fear learning." Science **343**(6173): 857-863.

Lovinger, D. M., K. L. Wong, K. Murakami and A. Routtenberg (1987). "Protein kinase C inhibitors eliminate hippocampal long-term potentiation." Brain Res **436**(1): 177-183.

Luscher, C. and R. C. Malenka (2012). "NMDA receptor-dependent long-term potentiation and long-term depression (LTP/LTD)." Cold Spring Harb Perspect Biol **4**(6).

Makino, H. and R. Malinow (2009). "AMPA receptor incorporation into synapses during LTP: the role of lateral movement and exocytosis." Neuron **64**(3): 381-390.

- Malikowska-Racia, N., A. Podkowa and K. Salat (2018). "Phencyclidine and Scopolamine for Modeling Amnesia in Rodents: Direct Comparison with the Use of Barnes Maze Test and Contextual Fear Conditioning Test in Mice." Neurotox Res.
- Malinow, R., D. V. Madison and R. W. Tsien (1988). "Persistent protein kinase activity underlying long-term potentiation." Nature **335**(6193): 820-824.
- Maren, S. (2008). "Pavlovian fear conditioning as a behavioral assay for hippocampus and amygdala function: cautions and caveats." Eur J Neurosci **28**(8): 1661-1666.
- Marie, H., W. Morishita, X. Yu, N. Calakos and R. C. Malenka (2005). "Generation of silent synapses by acute in vivo expression of CaMKIV and CREB." Neuron **45**(5): 741-752.
- Matsuo, N., L. Reijmers and M. Mayford (2008). "Spine-type-specific recruitment of newly synthesized AMPA receptors with learning." Science **319**(5866): 1104-1107.
- McBain, C. J. (2008). "Differential mechanisms of transmission and plasticity at mossy fiber synapses." Prog Brain Res **169**: 225-240.
- McNaughton, B. L., R. M. Douglas and G. V. Goddard (1978). "Synaptic enhancement in fascia dentata: cooperativity among coactive afferents." Brain Res **157**(2): 277-293.
- Melzer, S., M. Michael, A. Caputi, M. Eliava, E. C. Fuchs, M. A. Whittington and H. Monyer (2012). "Long-range-projecting GABAergic neurons modulate inhibition in hippocampus and entorhinal cortex." Science **335**(6075): 1506-1510.
- Mikulovic, S., C. E. Restrepo, M. M. Hilscher, K. Kullander and R. N. Leao (2015). "Novel markers for OLM interneurons in the hippocampus." Front Cell Neurosci **9**: 201.
- Mizusaki, B. E. P., A. Stepanyants, D. B. Chklovskii and P. J. Sjöström (2016). "Neocortex: a lean mean memory storage machine." Nat Neurosci **19**(5): 643-644.
- Muller, C. and S. Remy (2014). "Dendritic inhibition mediated by O-LM and bistratified interneurons in the hippocampus." Front Synaptic Neurosci **6**: 23.
- Murray, E. A. and M. Mishkin (1998). "Object recognition and location memory in monkeys with excitotoxic lesions of the amygdala and hippocampus." J Neurosci **18**(16): 6568-6582.
- Nabavi, S., R. Fox, C. D. Proulx, J. Y. Lin, R. Y. Tsien and R. Malinow (2014). "Engineering a memory with LTD and LTP." Nature **511**(7509): 348-352.

Neufeld, T. P. (2010). "TOR-dependent control of autophagy: biting the hand that feeds." Curr Opin Cell Biol **22**(2): 157-168.

Neves, G., S. F. Cooke and T. V. Bliss (2008). "Synaptic plasticity, memory and the hippocampus: a neural network approach to causality." Nat Rev Neurosci **9**(1): 65-75.

Nicoll, R. A. (2017). "A Brief History of Long-Term Potentiation." Neuron **93**(2): 281-290.

Nicoll, R. A. and R. C. Malenka (1995). "Contrasting properties of two forms of long-term potentiation in the hippocampus." Nature **377**(6545): 115-118.

Niswender, C. M. and P. J. Conn (2010). "Metabotropic glutamate receptors: physiology, pharmacology, and disease." Annu Rev Pharmacol Toxicol **50**: 295-322.

Park, P., A. Volianskis, T. M. Sanderson, Z. A. Bortolotto, D. E. Jane, M. Zhuo, B. K. Kaang and G. L. Collingridge (2014). "NMDA receptor-dependent long-term potentiation comprises a family of temporally overlapping forms of synaptic plasticity that are induced by different patterns of stimulation." Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci **369**(1633): 20130131.

Pearson, G., F. Robinson, T. Beers Gibson, B. E. Xu, M. Karandikar, K. Berman and M. H. Cobb (2001). "Mitogen-activated protein (MAP) kinase pathways: regulation and physiological functions." Endocr Rev **22**(2): 153-183.

Pelkey, K. A., R. Chittajallu, M. T. Craig, L. Tricoire, J. C. Wester and C. J. McBain (2017). "Hippocampal GABAergic Inhibitory Interneurons." Physiol Rev **97**(4): 1619-1747.

Pelletier, J. G. and J. C. Lacaille (2008). "Long-term synaptic plasticity in hippocampal feedback inhibitory networks." Prog Brain Res **169**: 241-250.

Penn, A. C., C. L. Zhang, F. Georges, L. Royer, C. Breillat, E. Hosy, J. D. Petersen, Y. Humeau and D. Choquet (2017). "Hippocampal LTP and contextual learning require surface diffusion of AMPA receptors." Nature **549**(7672): 384-388.

Perez, Y., F. Morin and J. C. Lacaille (2001). "A hebbian form of long-term potentiation dependent on mGluR1a in hippocampal inhibitory interneurons." Proc Natl Acad Sci U S A **98**(16): 9401-9406.

Pin, J. P. and R. Duvoisin (1995). "The metabotropic glutamate receptors: structure and functions." Neuropharmacology **34**(1): 1-26.

Pitts, M. W. (2018). "Barnes Maze Procedure for Spatial Learning and Memory in Mice." Bio Protoc **8**(5).

Pyapali, G. K., A. Sik, M. Penttonen, G. Buzsaki and D. A. Turner (1998). "Dendritic properties of hippocampal CA1 pyramidal neurons in the rat: intracellular staining in vivo and in vitro." J Comp Neurol **391**(3): 335-352.

Ran, I., C. G. Gkogkas, C. Vasuta, M. Tartas, A. Khoutorsky, I. Laplante, A. Parsyan, T. Nevarko, N. Sonenberg and J. C. Lacaille (2013). "Selective regulation of GluA subunit synthesis and AMPA receptor-mediated synaptic function and plasticity by the translation repressor 4E-BP2 in hippocampal pyramidal cells." J Neurosci **33**(5): 1872-1886.

Ran, I., I. Laplante, C. Bourgeois, J. Pepin, P. Lacaille, M. Costa-Mattioli, J. Pelletier, N. Sonenberg and J. C. Lacaille (2009). "Persistent transcription- and translation-dependent long-term potentiation induced by mGluR1 in hippocampal interneurons." J Neurosci **29**(17): 5605- 5615.

Ran, I., I. Laplante and J. C. Lacaille (2012). "CREB-dependent transcriptional control and quantal changes in persistent long-term potentiation in hippocampal interneurons." J Neurosci **32**(18): 6335-6350.

Read, W., V. I. Nenov and E. Halgren (1994). "Role of inhibition in memory retrieval by hippocampal area CA3." Neurosci Biobehav Rev **18**(1): 55-68.

Ressler, R. L. and S. Maren (2018). "Synaptic encoding of fear memories in the amygdala." Curr Opin Neurobiol **54**: 54-59.

Rogan, M. T., U. V. Staubli and J. E. LeDoux (1997). "Fear conditioning induces associative long-term potentiation in the amygdala." Nature **390**(6660): 604-607.

Rosenfeld, C. S. and S. A. Ferguson (2014). "Barnes maze testing strategies with small and large rodent models." J Vis Exp (84): e51194.

Sagar, H. J., N. J. Cohen, S. Corkin and J. H. Growdon (1985). "Dissociations among processes in remote memory." Ann N Y Acad Sci **444**: 533-535.

Santini, E., T. N. Huynh and E. Klann (2014). "Mechanisms of translation control underlying long-lasting synaptic plasticity and the consolidation of long-term memory." Prog Mol Biol Transl Sci **122**: 131-167.

Saxton, R. A. and D. M. Sabatini (2017). "mTOR Signaling in Growth, Metabolism, and Disease." Cell **169**(2): 361-371.

Scharfman, H. E. and J. M. Sarvey (1985). "Postsynaptic firing during repetitive stimulation is required for long-term potentiation in hippocampus." Brain Res **331**(2): 267-274.

Schmid, L. C., M. Mittag, S. Poll, J. Steffen, J. Wagner, H. R. Geis, I. Schwarz, B. Schmidt, M. K. Schwarz, S. Remy and M. Fuhrmann (2016). "Dysfunction of Somatostatin-Positive Interneurons Associated with Memory Deficits in an Alzheimer's Disease Model." Neuron **92**(1): 114-125.

Scoville, W. B. and B. Milner (1957). "Loss of recent memory after bilateral hippocampal lesions." J Neurol Neurosurg Psychiatry **20**(1): 11-21.

Sengupta, S., T. R. Peterson, M. Laplante, S. Oh and D. M. Sabatini (2010). "mTORC1 controls fasting-induced ketogenesis and its modulation by ageing." Nature **468**(7327): 1100-1104.

Sharma, A., C. A. Hoeffler, Y. Takayasu, T. Miyawaki, S. M. McBride, E. Klann and R. S. Zukin (2010). "Dysregulation of mTOR signaling in fragile X syndrome." J Neurosci **30**(2): 694-702.

Somogyi, P. and T. Klausberger (2005). "Defined types of cortical interneurone structure space and spike timing in the hippocampus." J Physiol **562**(Pt 1): 9-26.

Squire, L. R. (1992). "Memory and the hippocampus: a synthesis from findings with rats, monkeys, and humans." Psychol Rev **99**(2): 195-231.

Squire, L. R., R. E. Clark and B. J. Knowlton (2001). "Retrograde amnesia." Hippocampus **11**(1): 50-55.

Tang, S. J., G. Reis, H. Kang, A. C. Gingras, N. Sonenberg and E. M. Schuman (2002). "A rapamycin-sensitive signaling pathway contributes to long-term synaptic plasticity in the hippocampus." Proc Natl Acad Sci U S A **99**(1): 467-472.

Taniguchi, H., M. He, P. Wu, S. Kim, R. Paik, K. Sugino, D. Kvitsiani, Y. Fu, J. Lu, Y. Lin, G. Miyoshi, Y. Shima, G. Fishell, S. B. Nelson and Z. J. Huang (2011). "A resource of Cre driver lines for genetic targeting of GABAergic neurons in cerebral cortex." Neuron **71**(6): 995-1013.

Thomas, G. M. and R. L. Huganir (2004). "MAPK cascade signalling and synaptic plasticity." Nat Rev Neurosci **5**(3): 173-183.

Tonegawa, S., M. Pignatelli, D. S. Roy and T. J. Ryan (2015). "Memory engram storage and retrieval." Curr Opin Neurobiol **35**: 101-109.

Topolnik, L., M. Azzi, F. Morin, A. Kougioumoutzakis and J. C. Lacaille (2006). "mGluR1/5 subtype-specific calcium signalling and induction of long-term potentiation in rat hippocampal oriens/alveus interneurons." J Physiol **575**(Pt 1): 115-131.

Topolnik, L., P. Congar and J. C. Lacaille (2005). "Differential regulation of metabotropic glutamate receptor- and AMPA receptor-mediated dendritic Ca²⁺ signals by presynaptic and postsynaptic activity in hippocampal interneurons." J Neurosci **25**(4): 990-1001.

Tricoire, L., K. A. Pelkey, B. E. Erkkila, B. W. Jeffries, X. Yuan and C. J. McBain (2011). "A blueprint for the spatiotemporal origins of mouse hippocampal interneuron diversity." J Neurosci **31**(30): 10948-10970.

van Strien, N. M., N. L. Cappaert and M. P. Witter (2009). "The anatomy of memory: an interactive overview of the parahippocampal-hippocampal network." Nat Rev Neurosci **10**(4): 272-282.

Vasuta, C., J. Artinian, I. Laplante, S. Hebert-Seropian, K. Elayoubi and J. C. Lacaille (2015). "Metaplastic Regulation of CA1 Schaffer Collateral Pathway Plasticity by Hebbian MGluR1a-Mediated Plasticity at Excitatory Synapses onto Somatostatin-Expressing Interneurons." eNeuro **2**(4).

Vasuta, C., J. Artinian, I. Laplante, S. Hebert-Seropian, K. Elayoubi and J. C. Lacaille (2015). "Metaplastic Regulation of CA1 Schaffer Collateral Pathway Plasticity by Hebbian MGluR1a-Mediated Plasticity at Excitatory Synapses onto Somatostatin-Expressing Interneurons." eNeuro **2**(4).

Wang, X. and C. G. Proud (2011). "mTORC1 signaling what we still don't know." J Mol Cell Biol **3**(4): 206-220.

Watanabe, R., L. Wei and J. Huang (2011). "mTOR signaling, function, novel inhibitors, and therapeutic targets." J Nucl Med **52**(4): 497-500.

Willard, S. S. and S. Koochekpour (2013). "Glutamate, glutamate receptors, and downstream signaling pathways." Int J Biol Sci **9**(9): 948-959.

Whitlock, J. R., A. J. Heynen, M. G. Shuler and M. F. Bear (2006). "Learning induces long-term potentiation in the hippocampus." Science **313**(5790): 1093-1097.

Wigstrom, H. and B. Gustafsson (1985). "On long-lasting potentiation in the hippocampus: a proposed mechanism for its dependence on coincident pre- and postsynaptic activity." Acta Physiol Scand **123**(4): 519-522.

Witter, M. P., F. G. Wouterlood, P. A. Naber and T. Van Haeften (2000). "Anatomical organization of the parahippocampal-hippocampal network." Ann N Y Acad Sci **911**: 1-24.

Yasuda, H., A. L. Barth, D. Stellwagen and R. C. Malenka (2003). "A developmental switch in the signaling cascades for LTP induction." Nat Neurosci **6**(1): 15-16.

Younts, T. J., H. R. Monday, B. Dudok, M. E. Klein, B. A. Jordan, I. Katona and P. E. Castillo (2016). "Presynaptic Protein Synthesis Is Required for Long-Term Plasticity of GABA Release." Neuron **92**(2): 479-492.

Zhu, P. J., C. J. Chen, J. Mays, L. Stoica and M. Costa-Mattioli (2018). "mTORC2, but not mTORC1, is required for hippocampal mGluR-LTD and associated behaviors." Nat Neurosci **21**(6): 799-802.

Zola-Morgan, S., L. R. Squire and D. G. Amaral (1986). "Human amnesia and the medial temporal region: enduring memory impairment following a bilateral lesion limited to field CA1 of the hippocampus." J Neurosci **6**(10): 2950-2967.

Zoncu, R., A. Efeyan and D. M. Sabatini (2011). "mTOR: from growth signal integration to cancer, diabetes and ageing." Nat Rev Mol Cell Biol **12**(1): 21-35.